

Per. A-1169
-270



TARTU RIIKLIKU ÜLIKOOLI TOIMETISED
УЧЕННЫЕ ЗАПИСКИ
ТАРТУСКОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО УНИВЕРСИТЕТА
TRANSACTIONS OF THE TARTU STATE UNIVERSITY

ALUSTATUD 1893. a.

VIHİK 270 ВПЫСК

ОСНОВАНЫ В 1893 Г.

ARSTITEADUSLIKKE TÖID
XXVI
FARMAATSIJA-ALASED TÖÖD

ТРУДЫ ПО ФАРМАЦИИ



TARTU 1971

Per-A-100
-270

TARTU RIIKLIKU ÜLIKOOLI TOIMETISED
УЧЕНЫЕ ЗАПИСКИ
ТАРТУСКОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО УНИВЕРСИТЕТА
TRANSACTIONS OF THE TARTU STATE UNIVERSITY

ALUSTATUD 1893. a.

VIHK 270 ВЫПУСК

ОСНОВАНЫ в 1893 г.

ARSTITEADUSLIKKE TÖID
XXVI
FARMAATSIA-ALASED TÖÖD
ТРУДЫ ПО ФАРМАЦИИ

TARTU 1971

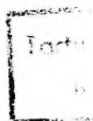
Редакционная коллегия:

Б. Луйк (председатель), И. Крузе и И. Таммари

Redaktsioonikolleegium:

B. Luik (esimees), I. Kruse ja I. Tammaru

P₁



65568

О ВЛИЯНИИ МИКРОЭЛЕМЕНТОВ НА ДИНАМИКУ РОСТА,
УРОЖАЙ И СОДЕРЖАНИЕ АЛКАЛОИДОВ В ДУРМАНЕ
ОБЫКНОВЕННОМ *Datura stramonium* L. В СВЯЗИ
С ИЗВЕСТКОВАНИЕМ КИСЛОЙ ПОЧВЫ

И. Таммару

О влиянии микроэлементов на алкалоидоносные растения в литературе имеется мало данных. Опубликовано несколько исследований о действии бора (1,2) и меди (3) на мак свотворный.

О положительном влиянии кобальта и марганца на биосинтез алкалоидов в дурмане сообщают Индра, Сыровый и др. (4).

В настоящей работе мы поставили перед собой задачу выяснить влияние микроэлементов бора, марганца, кобальта и молибдена на динамику роста, урожай и содержание алкалоидов в дурмане обыкновенном на фоне кислой неизвесткованной почвы и на фоне извести. С этой целью в 1967 г. при кафедре фармации Тартуского государственного университета был заложен вегетационный опыт.

Методика

Опыт был заложен на среднеподзолистом суглинке, pH солевой вытяжки которого был 4,50, а гидролитическая кислотность 5,12 мг - экв. на 100 г почвы.

Вегетационные сосудыместили 8,8 кг абсолютно сухой почвы. Повторность 8-и 7-кратная.

Фоном на неизвесткованной почве был НК. В качестве азотного удобрения вносили NH_4NO_3 в дозе 75 мг N на 1 кг почвы, в качестве фосфорного удобрения - $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ в дозе 75 мг P_2O_5 на 1 кг почвы и в качестве калийного удобрения - KCl в дозе 75 мг K_2O на 1 кг почвы.

Известь вносилась в полной дозе по гидролитической

кислотности почвы в виде химически чистого карбоната кальция.

Минеральные удобрения и известь перемешивали со всей почвой при набивке сосудов.

В фазе образования плодов дополнительно вносился раствор NH_4NO_3 из расчета 75 мг N на 1 кг почвы.

Микроэлементы вносились в виде раствора после набивки сосудов почвой.

В качестве борного удобрения вносился H_3BO_3 из расчета 1 мг B на 1 кг почвы, в качестве марганцевого удобрения $\text{MnSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$ из расчета 1 мг Mn на 1 кг почвы, в качестве кобальтового удобрения — $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$ из расчета 1 мг Co на 1 кг почвы и в качестве молибденового удобрения — $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_4$ из расчета 1 мг Mo на 1 кг почвы.

Поливку растений производили дождевой водой до 60% максимальной влагоемкости почвы.

В каждый сосуд высевали по 60 семян дурмана обыкновенного на глубину 1 см.

Всходы появились на 13 день после посева.

После окончательного прореживания в каждом сосуде оставили по одному растению.

Для исследования влияния микроэлементов на динамику роста дурмана производились измерения высоты и диаметра растений через 10 дней. Чтобы лучше выявить малейшие изменения в росте растений, результаты излагаются в виде произведения высоты растений на их диаметр (в см \times см).

Количественное определение содержания алкалоидов производили методом электрофореза на бумаге. pH боратного буферного раствора — 9,0. При напряжении 600 вольт разделение алкалоидов происходило за 45 минут.

Электрофореграммы проявлялись реактивом Драгендорфа в модификации Тиса и Рейтера (5) с некоторыми дополнениями.

Состав проявителя в модификации автора: к 2–3 мл исходного раствора, приготовленного по Тису и Рейтеру, прибавляли 46 мл ледяной уксусной кислоты, 120 мл этилацетата, 11 мл

дистиллированной воды и 20 мл 85%-ной муравьиной кислоты.

(Количество исходного раствора зависит от сорта и качества бумаги, а также от требуемого повышения чувствительности реактива и белизны фона. С повышением количества исходного раствора чувствительность возрастает, но может оставаться слабая желтизна фона.)

Такой способ разведения повышает чувствительность проявителя и дает очень контрастные и компактные пятна на белом фоне.

Проявленные электрофореграммы требуют, однако, более интенсивной и длительной вентиляции, от качества которой зависит белизна фона.

В тех случаях, когда вентиляция не давала белого фона, электрофореграммы держались от нескольких секунд до 1-2 минут над сильнокипящей водой на высоте 25 см от поверхности воды, избегая увлажнения электрофореграммы. Механизм действия этой операции, по-видимому, связан с улетучиванием остатков кислот и разложением реактива проявителя под действием умеренной влаги.

Для количественного определения алкалоидов в пятне использовался денситометр с двухцветным точечным сканирующим лучом (6). Точность метода $\pm 2\%$.

Результаты опыта

В таблице I приведены данные о влиянии микроэлементов В, Мп, Со и Мо на всхожесть семян дурмана. Положительный эффект видно как на фоне без извести, так и на фоне извести.

Наиболее высокая всхожесть наблюдается на фоне без извести под влиянием молибдена, а на фоне извести под влиянием кобальта.

Таблица I

Влияние микроэлементов на всхожесть
семян дурмана

Микро- элемен- ты	Всхожесть в % $\bar{X} \pm 0,95$		Повышение всхожести в %	
	Ф о н		Ф о н	
	без из- вести	CaCO ₃	без из- вести	CaCO ₃
-	69 ± 2	70 ± 5	0	0
B	82 ± 5	82 ± 8	13	12
Mn	79 ± 5	84 ± 8	10	14
Co	87 ± 7	85 ± 7	18	15
Mo	94 ± 3	77 ± 3	25	7

В таблице 2 приведены данные о влиянии микроэлементов на динамику роста дурмана. Из данных вытекает, что микроэлементы бор, марганец, кобальт и молибден ясно влияют на динамику роста дурмана.

Первые заметные признаки наблюдались уже в фазе бутонизации. Наиболее сильный рост имеют растения с бором на фоне без извести, причем на фоне извести влияния микроэлементов нет. Все растения на фоне извести имеют меньший рост по сравнению с растениями на фоне без извести.

В фазе цветения действие микроэлементов на фоне без извести становится еще более выраженным. Все растения с микроэлементами заметно большего роста, чем контрольные растения. Наиболее мощный рост имеют растения с молибденом.

Иная картина наблюдается у растений на фоне извести. Растения с микроэлементами имеют одинаковый рост с конт-

Таблица 2

Влияние микроэлементов на динамику
роста дурмана

Ф о н	Микро-эле-менты	Произведение средней высоты растений на диаметр см \times см $\bar{x} \pm \epsilon$ 0,95			
		Фаза бутонова- ции	Фаза цветения	Фаза образования плодов	Фаза созревания плодов
Без извести	-	306 \pm 28	650 \pm 61	2162 \pm 136	3575 \pm 197
	B	340 \pm 19	825 \pm 52	2496 \pm 130	4070 \pm 188
	Mn	285 \pm 35	816 \pm 76	2650 \pm 181	4047 \pm 157
	Co	285 \pm 30	825 \pm 69	2754 \pm 134	4148 \pm 153
	Mo	288 \pm 32	875 \pm 61	2856 \pm 118	4087 \pm 183
Ca CO ₃	-	240 \pm 24	520 \pm 52	1927 \pm 119	4200 \pm 262
	B	240 \pm 13	500 \pm 48	1927 \pm 145	4290 \pm 250
	Mn	240 \pm 13	525 \pm 61	2115 \pm 134	4234 \pm 199
	Co	240 \pm 17	546 \pm 80	2156 \pm 149	4234 \pm 151
	Mo	240 \pm 15	520 \pm 61	2016 \pm 91	3920 \pm 116

рольными растениями.

В фазе образования плодов продолжается положительное действие микроэлементов на фоне без извести. На фоне извести действие микроэлементов на рост дурмана по-прежнему малозаметно.

В фазе созревания плодов на фоне без извести действие микроэлементов на динамику роста дурмана не отличается от их действия в предыдущей фазе. На фоне извести у растений с микроэлементами по-прежнему разницы не наблюдается, но все растения растут интенсивнее, чем на фоне без извести. В результате этого растения на фоне извести имеют почти одинаковый рост с растениями на фоне без извести.

Влияние микроэлементов на урожай дурмана видно из таблицы 3. На фоне без извести микроэлементы В, Мп, Со и Мо повышают урожай всех органов дурмана. Наибольшее повышение урожая дает молибден. Действие бора, марганца и кобальта на урожай дурмана приблизительно одинаковое.

На фоне извести действие микроэлементов незначительное, повышение урожая доказано только в 4 случаях. Урожай листьев повышается только под влиянием марганца, урожай стеблей и корней под влиянием молибдена, урожай плодов - под влиянием кобальта. В остальных случаях повышение урожая находится в пределах неточности опыта.

В следующих таблицах приведены данные: в таблице 4 - влияние микроэлементов на содержание суммы алкалоидов в процентах в сырье, полученном из разных органов, в таблице 5 - содержание скополамина в %, и в таблице 6 - содержание гиосциамина в %. Доказанным можно считать повышение содержания алкалоидов больше 10%.

Влияние отдельных микроэлементов можно охарактеризовать следующим образом:

Бор. На фоне без извести бор весьма значительно повышает содержание алкалоидов в органах дурмана. Особенно сильно повышалось содержание алкалоидов в стеблях. Содержание гиосциамина в стеблях повышалось больше, чем содержание скополамина, а в листьях наоборот.

На фоне извести действие бора на образование алкалоидов в дурмане заметно слабее, но повышение содержания алкалоидов в % вполне доказано при стеблях и корнях.

Марганец. На фоне без извести Мп повышает содержание

Таблица 3

Влияние микроэлементов на урожай дурмана

Ф о н	Микро-эле-менты	Абсолютно сухой вес в г на одно растение $\bar{x} \pm \epsilon 0,95$				Повышение урожая в %			
		Листья	Стебли	Корни	Плоды*	Листья	Стебли	Корни	Плоды
Без извести	-	11,3 \pm 0,5	10,2 \pm 0,5	2,94 \pm 0,41	63,9 \pm 0,9	0	0	0	0
	B	13,6 \pm 0,5	13,7 \pm 1,0	4,75 \pm 0,30	84,5 \pm 2,0	20,4	34,3	61,6	32,2
	Mn	13,6 \pm 0,4	13,7 \pm 0,5	4,45 \pm 0,30	80,7 \pm 2,5	20,4	34,3	51,4	26,3
	Co	13,4 \pm 1,0	14,0 \pm 0,7	4,56 \pm 0,32	84,0 \pm 2,0	18,6	37,3	55,1	31,5
	Mo	14,9 \pm 1,0	14,5 \pm 0,8	5,02 \pm 0,39	92,0 \pm 3,0	31,9	42,2	70,7	44,0
Ca CO ₃	-	12,7 \pm 0,5	12,5 \pm 0,9	4,00 \pm 0,37	80,3 \pm 1,8	0	0	0	0
	B	12,5 \pm 0,7	12,2 \pm 1,3	4,11 \pm 0,43	82,1 \pm 1,8	1,6	-2,4	2,8	2,2
	Mn	13,6 \pm 0,5	13,0 \pm 1,1	4,33 \pm 0,37	81,0 \pm 2,6	5,5	4,0	8,3	0,9
	Co	13,5 \pm 0,8	13,5 \pm 0,7	4,41 \pm 0,30	87,0 \pm 3,0	6,3	8,0	11,1	8,3
	Mo	13,7 \pm 0,9	13,9 \pm 0,8	4,64 \pm 0,39	80,6 \pm 3,0	7,9	11,2	16,0	0,3

* Сырой вес.

Влияние микроэлементов на содержание суммы
алкалоидов (гиосциамин + скополамин) в дурмане

Таблица 4

Ф о н	Микро-эле-менты	Содержание алкалоидов на абсол.сухой вес в % $\bar{x} \pm \epsilon 0,95$			Повышение содержания алкалоидов в %		
		Листья	Стебли	Корни	Листья	Стебли	Корни
Без извести	-	0,113 \pm 0,007	0,036 \pm 0,008	0,138 \pm 0,007	0	0	0
	B	0,208 \pm 0,008	0,115 \pm 0,007	0,170 \pm 0,018	84,0	218,5	23,2
	Mn	0,177 \pm 0,010	0,079 \pm 0,009	0,141 \pm 0,009	56,5	118,6	2,2
	Co	0,187 \pm 0,004	0,064 \pm 0,005	0,205 \pm 0,010	64,6	78,1	48,6
	Mo	0,178 \pm 0,007	0,065 \pm 0,006	0,182 \pm 0,017	57,5	79,2	31,8
Ca CO ₃	-	0,148 \pm 0,010	0,042 \pm 0,001	0,145 \pm 0,010	0	0	0
	B	0,154 \pm 0,010	0,057 \pm 0,001	0,164 \pm 0,008	4,1	34,9	13,1
	Mn	0,177 \pm 0,011	0,059 \pm 0,001	0,140 \pm 0,006	19,6	40,0	-3,4
	Co	0,141 \pm 0,006	0,062 \pm 0,001	0,137 \pm 0,010	-4,1	46,5	-5,5
	Mo	0,125 \pm 0,007	0,041 \pm 0,001	0,161 \pm 0,010	-15,5	-3,8	11,9

Таблица 3

Влияние микроэлементов на урожай дурмана

Ф о н	Микро-эле-менты	Абсолютно сухой вес в г на одно растение $\bar{x} \pm \epsilon 0,95$				Повышение урожая в %			
		Листья	Стебли	Корни	Плоды*	Листья	Стебли	Корни	Плоды
Без извести	-	11,3 \pm 0,5	10,2 \pm 0,5	2,94 \pm 0,41	63,9 \pm 0,9	0	0	0	0
	B	13,6 \pm 0,5	13,7 \pm 1,0	4,75 \pm 0,30	84,5 \pm 2,0	20,4	34,3	61,6	32,2
	Mn	13,6 \pm 0,4	13,7 \pm 0,5	4,45 \pm 0,30	80,7 \pm 2,5	20,4	34,3	51,4	26,3
	Co	13,4 \pm 1,0	14,0 \pm 0,7	4,56 \pm 0,32	84,0 \pm 2,0	18,6	37,3	55,1	31,5
	Mo	14,9 \pm 1,0	14,5 \pm 0,8	5,02 \pm 0,39	92,0 \pm 3,0	31,9	42,2	70,7	44,0
Ca CO ₃	-	12,7 \pm 0,5	12,5 \pm 0,9	4,00 \pm 0,37	80,3 \pm 1,8	0	0	0	0
	B	12,5 \pm 0,7	12,2 \pm 1,3	4,11 \pm 0,43	82,1 \pm 1,8	1,6	-2,4	2,8	2,2
	Mn	13,6 \pm 0,5	13,0 \pm 1,1	4,33 \pm 0,37	81,0 \pm 2,6	5,5	4,0	8,3	0,9
	Co	13,5 \pm 0,8	13,5 \pm 0,7	4,41 \pm 0,30	87,0 \pm 3,0	6,3	8,0	11,1	8,3
	Mo	13,7 \pm 0,9	13,9 \pm 0,8	4,64 \pm 0,39	80,6 \pm 3,0	7,9	11,2	16,0	0,3

* Сырой вес.

Влияние микроэлементов на содержание суммы
алкалоидов (гиосциамин + скополамин) в дурмане

Таблица 4

Ф о н	Микро-эле-менты	Содержание алкалоидов на абсол.сухой вес в % x ± € 0,95			Повышение содержания алкалоидов в %		
		Листья	Стебли	Корни	Листья	Стебли	Корни
Без извести	-	0,113 ± 0,007	0,036 ± 0,008	0,138 ± 0,007	0	0	0
	B	0,208 ± 0,008	0,115 ± 0,007	0,170 ± 0,018	84,0	218,5	23,2
	Mn	0,177 ± 0,010	0,079 ± 0,009	0,141 ± 0,009	56,5	118,6	2,2
	Co	0,187 ± 0,004	0,064 ± 0,005	0,205 ± 0,010	64,6	78,1	48,6
	Mo	0,178 ± 0,007	0,065 ± 0,006	0,182 ± 0,017	57,5	79,2	31,8
Ca CO ₃	-	0,148 ± 0,010	0,042 ± 0,001	0,145 ± 0,010	0	0	0
	B	0,154 ± 0,010	0,057 ± 0,001	0,164 ± 0,008	4,1	34,9	13,1
	Mn	0,177 ± 0,011	0,059 ± 0,001	0,140 ± 0,006	19,6	40,0	-3,4
	Co	0,141 ± 0,006	0,062 ± 0,001	0,137 ± 0,010	-4,1	46,5	-5,5
	Mo	0,125 ± 0,007	0,041 ± 0,001	0,161 ± 0,010	-15,5	-3,8	11,9

Таблица 5

Влияние микроэлементов на содержание скополамина
в дурмане

Ф о н	Микро-элементы	Содержание скополамина на абсол.сухой вес в % $\bar{x} \pm \sigma 0,95$			Повышение содержания скополами-на в %		
		Листья	Стебли	Корни	Листья	Стебли	Корни
Без извести	-	0,0057 \pm 0,0005	0,0021 \pm 0,0004	0,027 \pm 0,002	0	0	0
	B	0, 013 \pm 0,001	0,0062 \pm 0,0006	0,038 \pm 0,002	126,3	195,0	32,9
	Mn	0,0086 \pm 0,0005	0,0029 \pm 0,0004	0,027 \pm 0,002	50,9	38,0	-7,0
	Co	0,0107 \pm 0,0010	0,0023 \pm 0,0006	0,036 \pm 0,002	87,7	9,5	25,9
	Mo	0,0116 \pm 0,0002	0,0027 \pm 0,0006	0,036 \pm 0,001	103,5	28,4	24,5
Ca CO ₃	-	0,0090 \pm 0,0005	0,0024 \pm 0,0009	0,035 \pm 0,001	0	0	0
	B	0,0097 \pm 0,0003	0,0022 \pm 0,0007	0,041 \pm 0,002	7,8	-7,4	16,9
	Mn	0,0095 \pm 0,0002	0,0024 \pm 0,0007	0,034 \pm 0,003	5,5	0	- 2,8
	Co	0,0077 \pm 0,0004	0,0021 \pm 0,0008	0,029 \pm 0,002	-14,4	-12,5	-18,4
	Mo	0,0072 \pm 0,0005	0,0021 \pm 0,0007	0,023 \pm 0,002	-20,0	-12,5	-35,1

Таблица 6

Влияние микроэлементов на содержание гиосциамина
в дурмане

Ф о н	Микро-эле-мент	Содержание гиосциамина на абсол.сухой вес в % \pm \pm 0,95			Повышение содержания гиосциамина в %		
		Листья	Стебли	Корни	Листья	Стебли	Корни
Без извести	-	0,107 \pm 0,007	0,0340 \pm 0,008	0,109 \pm 0,005	0	0	0
	B	0,196 \pm 0,014	0,109 \pm 0,007	0,132 \pm 0,007	83,0	220,6	21,2
	Mn	0,168 \pm 0,01	0,0760 \pm 0,008	0,115 \pm 0,008	57,0	123,5	5,5
	Co	0,176 \pm 0,003	0,063 \pm 0,004	0,169 \pm 0,010	64,5	84,5	55,0
	Mo	0,167 \pm 0,007	0,062 \pm 0,004	0,146 \pm 0,015	56,1	82,3	33,9
Ca CO ₃	-	0,139 \pm 0,010	0,040 \pm 0,007	0,110 \pm 0,01	0	0	0
	B	0,144 \pm 0,010	0,055 \pm 0,005	0,123 \pm 0,007	3,6	37,5	11,2
	Mn	0,167 \pm 0,010	0,057 \pm 0,002	0,106 \pm 0,009	20,1	43,5	-3,7
	Co	0,133 \pm 0,006	0,060 \pm 0,006	0,108 \pm 0,010	-4,3	50,0	-1,8
	Mo	0,118 \pm 0,006	0,039 \pm 0,006	0,138 \pm 0,008	-15,1	0	25,5

Таблица 7

Влияние микроэлементов на содержание суммы
алкалоидов в абсолютно сухих органах растения
дурмана

Ф о н	Микро- элемент	Содержание алкалоидов в мг на одно растение $\bar{x} \pm \epsilon$ 0,95			Повышение содержания алка- лоидов в %		
		Листья	Стебли	Корни	Листья	Стебли	Корни
Без извести	-	12,75 \pm 1,35	3,68 \pm 0,26	4,06 \pm 0,77	0	0	0
	B	28,29 \pm 2,94	15,76 \pm 2,11	8,08 \pm 1,37	121,9	328,2	99,0
	Mn	24,07 \pm 2,07	10,81 \pm 2,02	6,56 \pm 0,86	88,8	193,8	61,6
	Co	25,06 \pm 2,40	9,14 \pm 1,17	9,35 \pm 1,11	96,5	148,4	130,3
	Mo	26,52 \pm 2,82	9,38 \pm 1,37	9,14 \pm 1,56	108,0	154,9	125,1
Ca CO ₃	-	18,80 \pm 2,01	5,30 \pm 0,51	5,80 \pm 0,94	0	0	0
	B	19,25 \pm 2,33	6,98 \pm 0,87	6,75 \pm 1,11	2,4	31,7	11,6
	Mn	23,45 \pm 2,32	7,72 \pm 0,76	6,06 \pm 0,78	24,7	45,7	4,5
	Co	19,04 \pm 2,13	8,38 \pm 0,57	6,08 \pm 0,89	1,3	58,1	4,8
	Mo	17,26 \pm 2,10	5,71 \pm 0,47	7,47 \pm 1,09	- 8,2	7,7	28,8

алкалоидов во всех органах дурмана, за исключением корней.

На фоне извести марганец также сильно повышает содержание алкалоидов за исключением корней. Содержание скополамина не повышалось.

Кобальт. На фоне без извести Со сильно повышает содержание алкалоидов во всех органах дурмана. Содержание скополамина повышается меньше, чем содержание гиосциаминина, особенно в стеблях, где повышение содержания алкалоида не является доказанным.

На фоне извести содержание алкалоидов повышалось под влиянием кобальта только в стеблях, а в листьях и корнях повышение содержания алкалоидов не наблюдалось.

Содержание скополамина во всех органах не повышалось, а даже несколько снизилось.

Молибден. На фоне без извести Мо повышает содержание алкалоидов во всех органах дурмана аналогично В, Мп и Со.

На фоне извести не наблюдалось повышения содержания алкалоидов, кроме корней, где содержание гиосциаминина повышалось. Содержание скополамина даже снизилось под влиянием молибдена во всех органах.

Влияние микроэлементов на содержание алкалоидов в мг на одно растение видно из данных, приведенных в таблице 7.

Из таблицы вытекает, что на фоне без извести микроэлементы В, Мп, Со и Мо повышают содержание алкалоидов в мг во всех органах дурмана. На фоне извести содержание алкалоидов в мг на одно растение под влиянием бора повышается в стеблях, в листьях повышение содержания алкалоидов находится в пределах неточности опыта и определения содержания алкалоидов. Под влиянием марганца повышение содержания алкалоидов наблюдается в листьях и стеблях, в корнях содержание алкалоидов не повышается.

Кобальт на фоне извести повышает содержание алкалоидов только в стеблях.

В листьях и корнях повышение содержания алкалоидов не доказано.

Под влиянием молибдена содержание алкалоидов в листьях и стеблях не изменяется и повышается в корнях.

Обсуждение результатов.

Полученные результаты о действии микроэлементов бора, марганца, кобальта и молибдена на дурман обыкновенный говорят о важном значении этих микроэлементов для нормального развития этого растения.

На фоне извести действие названных микроэлементов значительно уменьшается.

Это явление можно объяснить уменьшением доступности этих микроэлементов под влиянием углекислого кальция, что доказано несколькими авторами (7,8,9,10) в опытах с сельскохозяйственными растениями.

Чем можно объяснить отставание в росте дурмана на фоне без извести в фазе созревания плодов? По-видимому в этой фазе начинает уже сказываться недостаток кальция на известкованной почве.

Выводы

1. Микроэлементы бор, марганец, кобальт и молибден повышают всхожесть семян дурмана.
2. Микроэлементы бор, марганец, кобальт и молибден ускоряют динамику роста дурмана.
3. Известь уменьшает действие бора, марганца, кобальта и молибдена на динамику роста дурмана.
4. Микроэлементы бор, марганец, кобальт и молибден повышают урожай всех органов дурмана.
5. Известь уменьшает влияние микроэлементов бора, марганца, кобальта и молибдена на урожай дурмана.
6. Микроэлементы бор, марганец, кобальт и молибден повышают процентное содержание алкалоидов в дурмане.

7. Известь уменьшает действие микроэлементов бора, марганца, кобальта и молибдена на образование алкалоидов в дурмане.

Литература

1. Michna, M., Szwadiak, J. Wplyw nawozenia borem i dwiema formami nawozów azotowych na plon i zawartosc morfiny w makówkach maku odmiany Niebieski K.M. - "Biul. Inst. rósl. leczn.", 1964, 10, Nr. 2-3, 138-145.
2. Mokranjac, M., Birmančević, M. Delovanje bora na razvoj maka. - Acta Pharmac. Jugosl., 1964, 14, Nr. 3-4, 73-84.
3. Букзеев Н. Применение микроэлемента меди в культуре мака.- "С.х. Киргизии", 1958, № 5, 37-39.
4. Jindra, A., Syrový, I., Böswart, J., Jiráček, V., Majerová, A. Über den Einfluss von Arginaseaktivatoren auf die Alkaloidbiosynthese in Datura stramonium L. - "Abhandl. Deutsch. Akad. Wiss. Berlin. Kl. Chem., Geol. und Biol.", 1956, Nr. 7, 106-109.
5. Thies, H., Reuther, P.W. Ein Reagens zum Nachweis von Alkaloiden auf Papierchromatogrammen. - "Naturwissenschaften", 1954, 41, Nr. 10, 230-231.
6. Кийс В.И., Реэбен В.А. и Ягосилд А.Д. Денситометр с двухцветным точечным сканирующим лучом.-"Биохимия", № 29, вып.6, 1964, 1029-1034.

7. Кедров-Зихман О.К. Основные вопросы известкования почв СССР. - "Докл.УІ Международному конгрессу почвоведов. 4-я комиссия. Плодородие почв. АН.СССР", М., 1956, 89-96.
8. Агафонова А.Ф. Влияние бора при известковании почвы на химический состав растений. "Тр. Всес. н.-и. ин-та удобр., агротехн. и агропочвовед", 1955, вып. 31, 331-347.
9. Borlan, Z., Militescu, L. Mobilitatea elementelor nutritive in solurile calcarizate. - "An. Inst. centr. cercetari agric.", 1964 (1966), В 32, 9-30.
10. Mitchell, R.L. The trace element content of plants. - "Research", 1957, 10, No. 9, 357-362.

**MIKROELEMENTIDE MÕJUST OKASÕUNA DATURA STRAMONIUM L.
KASVUDÜNAAMIKALE, SAAGILE JA ALKALOIIDIDESISALDUSELE
SEoses HAPPELISE MULLA LUPJAMISEGA**

I. Tammaru

R e s ü m e e

Lupjamata keskmiselt happelisele ($\text{pH}_{\text{KCl}} = 4,50$) ja lubjatud mullale rajatud nõukatsed hariliku okasõunaga näitasid, et mikroelemendid boor, mangaan, koobalt ja molübdeen suurendavad seemnete idanemust, kiirendavad kasvu ja tõstavad saaki ning alkaloididesisaldust, kui muld sisaldab okasõunale optimaalsel hulgal kaltsiumi. Seemnete idanemus, kasv ja saak suurenesid kõige enam molübdeeni, alkaloididesisaldus aga boori mõjul.

Happelise mulla lupjamine annuses 100 % hüdrolüütilise happesuse järgi vähendab nimetatud mikroelementide mõju okasõunale, kusjuures mõju kasvule ei ole märgatav, lehtede saaki tõstis vaid mangaan, varte ja juurte saaki molübdeen ning viljade saaki koobalt. Mulla lupjamine vähendas mikroelementide mõju alkaloididesisaldusele, välja arvatud mangaan.

О ВЛИЯНИИ МИКРОЭЛЕМЕНТОВ НА ДИНАМИКУ РОСТА, УРОЖАЙ И СОДЕРЖАНИЕ АЛКАЛОИДОВ В ЛИСТЬЯХ ДУРМАНА ОБЫКНОВЕННОГО *Datura stramonium* L. ПРИ НЕДОСТАТКЕ КАЛЬЦИЯ В ПОЧВЕ

И. Таммару

Кальций является элементом, необходимым для растений как питательный элемент и как элемент, влияющий на pH почвы. Кроме того, кальций оказывает значительное влияние на усвояемость других элементов, в том числе и микроэлементов (1,2).

Поскольку в литературе нет данных о влиянии микроэлементов на дурман при недостатке кальция в почве, мы поставили перед собой задачу выяснить действие микроэлементов бора, марганца, кобальта и молибдена на дурман обыкновенный при недостатке кальция в почве.

С этой целью в 1968 г. при кафедре фармации Тартуского государственного университета был заложен вегетационный опыт.

Методика

Опыт был заложен на фоне кислой известкованной почвы и известкованной почвы, уже использованных для выращивания дурмана в опыте 1967 г. (см. предыдущую статью). pH_{KCl} почвы - 4,45, гидролитическая кислотность - 5,32 мг эквивалентов на 100 г почвы. Вегетационные сосудыместили 8,8 кг абсолютно сухой почвы. Повторность 4-5-кратная. Фоном во всех сосудах был NPK. В качестве азотного удобрения вносили NH_4NO_3 в дозе 75 мг N на 1 кг почвы, в качестве фосфорного удобрения $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ в дозе 75 мг P_2O_5 на 1 кг почвы и в качестве калийного удобрений KCl в дозе 75 мг K_2O на 1 кг почвы.

Микроэлементы и известь дополнительно не вносились. Остальные условия опыта и произведения анализов аналогичны опыту 1967 года (см. предыдущую статью).

Результаты опыта

В таблице I приведены данные о влиянии микроэлементов на динамику роста дурмана. Из данных следует, что на фоне без извести влияние микроэлементов начинается уже с фазы бутонизации. Бор не влияет на рост дурмана, но марганец, кобальт и молибден заметно ускоряют рост растений. На фоне извести, наоборот, только бор положительно действует на рост растений, а остальные микроэлементы не дают эффекта.

Таблица I

Влияние микроэлементов на динамику роста
дурмана в опыте 1968 года

Ф о н	Микро-элемент	Произведение средней высоты растений на диаметр см x см + ± 0,95			
		Ф а з а			
		бутони-зации	цветения	образова-ния плодов	созревания плодов
Без извести	-	216±14	956±22	3048±127	4134±176
	B	228±67	1103±110	2898±133	4285±249
	Mn	273±21	1403±79	3602±226	5007±332
	Co	273±31	1297±127	3467±223	4815±242
	Mo	264±36	1333±100	3502±273	4870±265
CaCO ₃	-	432±45	1841±83	4392±90	6019±217
	B	480±18	2271±150	4657±203	6408±213
	Mn	432±45	1852±69	4282±160	6371±262
	Co	420±27	1917±51	4248±168	6096±323
	Mo	405±52	1943±160	4297±62	6083±301

В отличие от результатов опыта в 1967 году все растения на фоне извести имеют большой рост по сравнению с растениями на фоне без извести.

В таблице 2 приведены данные о влиянии микроэлементов на урожай дурмана, из которых вытекает, что на фоне без извести бор понижает урожай листьев и плодов, молибден повышает урожай листьев и корней, кобальт повышает урожай листьев, а марганец не влияет на урожай дурмана.

На фоне извести бор и молибден повышают урожай плодов, кобальт повышает урожай листьев, а марганец, аналогично фону без извести, не дает эффекта.

В таблице 3 приведены данные о влиянии микроэлементов на содержание в листьях гиосциаммина, скополамина и их суммы. Действие отдельных микроэлементов можно охарактеризовать следующим образом.

Бор не оказывает заметного влияния на содержание алкалоидов.

Марганец не влияет на содержание алкалоидов на фоне без извести. На фоне извести марганец заметно повышает содержание гиосциаммина и суммы алкалоидов.

Кобальт не имеет заметного влияния.

Молибден понижает содержание алкалоидов в листьях на обоих фонах, особенно на фоне без извести.

В таблице 4 приведены данные о влиянии микроэлементов на содержание суммы алкалоидов в листьях дурмана в мг на одно растение. Из данных следует, что на фоне без извести содержание алкалоидов на одно растение не изменяется под влиянием микроэлементов. Понижающий эффект бора является недостоверным.

На фоне извести содержание алкалоидов в мг на одно растение повышается только под влиянием марганца, а остальные микроэлементы не эффективны.

Таблица 2

Влияние микроэлементов на урожай урумана в
опыте 1968 года

Фон	Микро- эле- мент	Абсолютно сухой вес в г на одно растение $\bar{x} \pm \sigma_{0,95}$				Повышение урожая в %			
		листья	стебли	корни	плоды ^ж	листья	стебли	корни	плоды
Без извести	-	10,33 \pm 0,80	10,42 \pm 0,94	4,04 \pm 0,43	67,7 \pm 3,7	0	0	0	0
	B	8,96 \pm 0,67	10,65 \pm 1,14	3,79 \pm 0,30	58,0 \pm 2,5	-13,3	2,2	-6,2	-14,3
	Mn	10,51 \pm 1,35	11,29 \pm 0,92	4,09 \pm 0,43	66,4 \pm 4,4	1,7	8,4	1,2	-1,9
	Co	11,91 \pm 1,11	11,53 \pm 1,08	4,04 \pm 0,42	62,5 \pm 2,8	15,3	10,7	0	-7,7
	Mo	13,54 \pm 0,97	11,51 \pm 1,03	4,76 \pm 0,24	61,4 \pm 3,0	31,0	10,5	17,8	-9,3
CaCO ₃	-	14,86 \pm 0,76	16,75 \pm 1,00	5,10 \pm 0,20	113,7 \pm 9,4	0	0	0	0
	B	15,63 \pm 1,05	18,31 \pm 1,97	5,03 \pm 0,38	132,2 \pm 5,7	5,2	9,3	-1,4	16,3
	Mn	15,90 \pm 0,86	17,54 \pm 0,58	5,17 \pm 0,48	120,6 \pm 5,1	7,0	4,7	1,4	6,1
	Co	17,23 \pm 0,67	18,91 \pm 1,32	5,50 \pm 0,49	124,2 \pm 3,8	16,0	12,9	7,8	9,2
	Mo	16,19 \pm 0,80	18,22 \pm 1,36	5,20 \pm 0,34	134,3 \pm 5,3	9,0	8,8	2,0	18,1

^ж Сырой вес.

Таблица 3

Влияние микроэлементов на содержание алкалоидов
в листьях дурмана в опыте 1968 года

Элемент	Микро-элемент	Содержание алкалоидов на абсолютно сухой вес в % $\bar{x} \pm \varepsilon$ 0,95			Повышение содержания алкалоидов в %		
		Глюкоцинин	Скополамин	Сумма алкалоидов	глюкоцинин	скополамин	сумма алкалоидов
Без извести	-	0,373 \pm 0,019	0,025 \pm 0,003	0,400 \pm 0,020	0	0	0
	B	0,379 \pm 0,035	0,029 \pm 0,008	0,408 \pm 0,036	1,1	16,0	2,0
	Mn	0,387 \pm 0,019	0,025 \pm 0,001	0,412 \pm 0,019	3,2	0	3,0
	Co	0,356 \pm 0,029	0,022 \pm 0,005	0,378 \pm 0,029	-5,1	-12,0	-5,5
	Mo	0,290 \pm 0,005	0,020 \pm 0,001	0,310 \pm 0,005	-22,7	-20,0	-22,5
CaCO ₃	-	0,303 \pm 0,029	0,031 \pm 0,005	0,334 \pm 0,029	0	0	0
	B	0,294 \pm 0,019	0,028 \pm 0,005	0,322 \pm 0,020	-3,0	-3,0	-3,6
	Mn	0,366 \pm 0,031	0,034 \pm 0,008	0,400 \pm 0,034	20,8	9,7	19,8
	Co	0,270 \pm 0,020	0,033 \pm 0,003	0,303 \pm 0,020	10,9	6,5	-9,3
	Mo	0,269 \pm 0,022	0,023 \pm 0,005	0,292 \pm 0,022	-11,2	-25,8	-12,6

Таблица 4

Влияние микроэлементов на содержание суммы
алкалоидов в абсолютно сухих листьях дурмана в
опыте 1968 года

Ф о н	Микро- элемен- ты	Содержание алкалои- дов в мг на одно рас- тение $\bar{x} \pm \varepsilon$ 0,95	Повышение со- держания алка- лоидов в %
Без известки	-	$41,3 \pm 5,3$	0
	B	$36,6 \pm 6,0$	-11,4
	Mn	$43,3 \pm 7,5$	4,8
	Co	$45,0 \pm 7,7$	9,0
	Mo	$42,0 \pm 3,7$	1,7
CaCO ₃	-	$49,6 \pm 6,9$	0
	B	$50,3 \pm 6,5$	1,4
	Mn	$63,6 \pm 8,8$	28,4
	Co	$52,2 \pm 5,5$	5,2
	Mo	$47,3 \pm 5,9$	- 4,7

Обсуждение результатов

Приведенные данные подтверждают существенную зависи-
мость действия микроэлементов от содержания кальция в поч-
ве, как и в опыте 1967 года (см. предыдущую статью). Но при
сравнении результатов 1967 года с результатами 1968 года
выясняются значительные различия. До фазы образования пло-
дов в опыте 1967 года растения на известкованной почве
имели при всех вариантах более мощный рост, чем растения на
известкованной почве, а в опыте 1968 года - наоборот.

Такое явление, по-видимому, объясняется следующими причинами. Кислая почва в опыте 1967 года содержала определенное количество извести, достаточное для развития дурмана в начальных фазах (до образования плодов). Это количество является достаточным, чтобы, с одной стороны, защищать растения от вредного действия больших доз микроэлементов (микроэлементы вносились в относительно больших дозах) и, с другой стороны, развивать положительное действие микроэлементов. Известь прибавлялась в 100% норме. Это количество следует считать также слишком большим. Наши опыты показали, что наилучшим образом дурман развивается на кислых почвах, известкованных в норме 25% гидролитической кислотности. Большие дозы кальция задерживают развитие дурмана, а также уменьшают доступность микроэлементов. При развитии дурман использует много кальция, вследствие чего почва без извести уже в конце вегетационного периода 1967 года оказалась бедной по содержанию кальция, а известкованная почва оптимальной по содержанию кальция.

На бедной по содержанию кальция почве в опыте 1968 года развивался токсический эффект микроэлементов, особенно при удобрении бором. Растения, удобренные бором, имели меньший рост и урожай всех органов был ниже, чем у контрольных растений.

Очень характерным было явление желтых пятен на молодых листьях дурмана у растений всех вариантов на фоне без извести в опыте 1968 года. На фоне извести такое явление не наблюдалось, и растения имели нормальный внешний вид, как и в опыте 1967 года. Результаты обоих опытов не различались и по динамике роста (за исключением растений, удобренных бором в опыте 1968 года, которые развивались несколько лучше контрольных растений) и по урожаю дурмана.

Более высокий уровень содержания алкалоидов в процентах в листьях в опыте 1968 года объясняется лучшими метеорологическими условиями этого года.

Отсутствие эффекта повышения содержания алкалоидов в

процентах в листьях дурмана под влиянием микроэлементов на фоне без извести в опыте 1968 года можно объяснить их токсическим действием при недостатке кальция.

На фоне извести действие микроэлементов на содержание алкалоидов в листьях в % и мг на одно растение почти одинаковое в обоих опытах. В обоих опытах содержание гиосциаминна в % и содержание суммы алкалоидов в мг на одно растение повышались только под влиянием марганца, а содержание скополамина не повышалось под влиянием ни одного микроэлемента. Молибден понижал содержание как гиосциаминна, так и скополамина в обоих опытах.

Выводы

1. Действие микроэлементов бора, марганца, кобальта и молибдена на дурман сильно зависит от содержания кальция в почве.

2. При недостатке кальция в почве бор может действовать токсически и замедлить рост и уменьшить урожай дурмана, под влиянием марганца урожай дурмана может не повышаться, а содержание алкалоидов в % в листьях может не повышаться под влиянием микроэлементов.

Литература

1. Hallik, O. *Agrotoecemia*. Tln., ERK, 1963.
2. Прянишников Д.Н. *Агрохимия*. М., 1940.

MIKROELEMENTIDE MÕJUST OKASÕUNA DATURA STRAMONIUM L.
KASVUDÜNAAMIKALE, SAAGILE JA LEHTEDE ALKALOIDIDE-
SISALDUSELE KALTSIUMIVARSES MULLAS

I. Tammara

R e s ü m e

Mõnaksed, kus okasõuna *Datura stramonium* L. kasvatati teist aastat järjest lupjamata happelisel ja lubjatud mullal, näitasid, et mikroelementide boori, mangaani, koobalti ja molübdeeni mõju okasõunale sõltub tugevasti mulla kaltsiumisisaldusest.

Kaltsiumipuudusel võivad mikroelemendid mõjuda okasõunale toksiliselt. Boori mõjul aeglustub kasv ja väheneb saak, kuna koobalti ja molübdeeni mõju kasvule ja saagile on palju väiksem kui optimaalse kaltsiumisisaldusega mulla puhul. Mangaani mõjul kiirenes küll kasv, kuid saak ei tõusnud. Lubjatud happelisel mullal puudus mikroelementide mõju okasõuna kasvule ja saagile analoogiliselt eelmise aastaga.

Okasõuna kultiveerimisel vähese kaltsiumisisaldusega mullal ei muutunud lehtede alkaloididesisaldus mikroelementide boori, mangaani ja koobalti mõjul, kuid langes märgatavalt molübdeeni mõjul. Mikroelementide mõju lehtede alkaloididesisaldusele lubjatud mullal oli analoogiline mõjuga eelmisel kultiveerimise aastal.

О ВЛИЯНИИ ИЗВЕСТКОВАНИЯ НА ДИНАМИКУ РОСТА, УРОЖАЙ
И СОДЕРЖАНИЕ АЛКАЛОИДОВ В ДУРМАНЕ ОБЫКНОВЕННОМ
Datura stramonium L. НА ФОНЕ РАЗНЫХ ФОРМ АЗОТА

И. Таммару

В азотном питании растений форма азота имеет важное значение.

Из опытов с сельскохозяйственными растениями известно, что действие нитратного и аммиачного азота зависит от кислотности почвы (1,2,3).

На кислой почве нитратная форма азота действует обычно лучше аммиачного азота, но на известкованной почве хорошие результаты дает также и аммиачная форма азота.

О действии известкования на дурман на фоне разных форм азота в литературе пока нет данных.

С целью изучения влияния известкования на дурман обыкновенный в 1966 г. на кафедре фармации ТГУ был заложен вегетационный опыт с дурманом обыкновенным.

Методика

Опыт был заложен на среднеподзолистом суглинке, рН солевой вытяжки которого был 4,75, гидролитическая кислотность 3,90 мг - экв. на 1 кг почвы, степень насыщенности почвы основаниями - 61,2%.

Вегетационные сосудыместили 9,28 кг абсолютно сухой почвы.

Повторность 13- и 12-кратная.

Фоном в опыте был НК. В качестве нитратного азота вносился $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, а в качестве аммиачного азота $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ в дозе 70 мг N на 1 кг почвы.

В качестве фосфорного и калийного удобрения вносились K_2HPO_4 и KCl из расчета 70 мг P_2O_5 и 70 мг K_2O на 1 кг почвы.

В фазе образования плодов дополнительно вносился азот в дозе 70 мг N на 1 кг почвы.

Все удобрения вносились в виде растворов.

Поскольку в сосуды с нитратом кальция вносился и кальций, то и в сосуды с сернокислым аммонием вносился кальций в эквивалентном количестве в форме сульфата кальция.

В качестве извести вносился химически чистый карбонат кальция в дозах 25, 33,3 и 50% от полной дозы по гидролитической кислотности почвы (Н).

Минеральные удобрения и известь перемешивались со всей почвой при набивке сосудов.

В каждый сосуд высевали по 100 семян дурмана обыкновенного. Всходы появились на 20 день посева. После окончательного прореживания в каждом сосуде оставили по одному растению.

Поливку растений производили дождевой водой до 60% максимальной влагоемкости почвы.

Для исследования влияния известкования на динамику роста дурмана при разных формах азота производились измерения высоты и диаметра растений с промежутками в 10 дней.

Чтобы лучше выявить малейшие изменения в росте растений, результаты измерений излагаются в виде произведения высоты растений на их диаметр (в см x см).

Содержание алкалоидов определялось при помощи метода электрофореза на бумаге. (О методике определения см. статью автора "О влиянии микроэлементов на динамику роста, урожай и содержание алкалоидов в дурмане обыкновенном *Datura stramonium* L. в связи с известкованием кислой почвы").

Точность метода определений $\pm 2\%$.

Результаты опытов

Влияние известкования на динамику роста дурмана изложено в таблице I. Как вытекает из таблицы, в фазе бутонизации растения на неизвесткованной почве имеют несколько более крупные размеры, чем растения на известкованной почве. Это явление

Таблица I

Влияние известкования на динамику роста
дурумана на фоне разных форм азота

Ф о н	Доза известкования в % Н	Произведение средней высоты растений на диаметр см \times см $\bar{x} \pm \epsilon$ 0,95			
		Ф а з а			
		бутониза- ции	цветения	образова- ния плодов	созревания плодов
NO ₃ ⁻	-	360 \pm 37	2107 \pm 108	4260 \pm 95	4941 \pm 126
	25	288 \pm 21	1920 \pm 93	4500 \pm 97	5670 \pm 167
	33,3	272 \pm 19	1872 \pm 118	4440 \pm 147	5670 \pm 155
	50	256 \pm 8	1739 \pm 114	4275 \pm 130	5670 \pm 167
NH ₄ ⁺	-	323 \pm 19	1927 \pm 106	4130 \pm 120	4697 \pm 167
	25	270 \pm 21	1833 \pm 91	4176 \pm 126	5124 \pm 135
	33,3	240 \pm 21	1813 \pm 143	4176 \pm 118	5280 \pm 183
	50	240 \pm 19	1680 \pm 147	3816 \pm 70	5073 \pm 163

наблюдается на фоне обеих форм азота, причем, чем выше доза, тем меньше рост растений. На фоне нитратного азота растения бывают чуть большего роста, чем на фоне аммиачного азота.

В фазе цветения разница в росте растений между разной формой азота увеличивается, и растения на фоне нитратного азота заметно крупнее, чем на фоне аммиачного азота. На обоих фонах растения на известкованной почве имеют больший рост, чем на известкованной почве. Рост растений тем меньше, чем выше доза извести.

На фоне образования плодов картина изменяется. Растения на известкованной почве отстают в росте по сравнению с ростом растений на известкованной почве. Этот эффект особенно заметен на фоне нитратного азота, причем наивысший рост имеют растения в сосудах с дозой извести 25% от полной дозы по гидролитической кислотности почвы (Н).

На фоне аммиачного азота названный эффект выражается в выравнивании роста растений на известкованной и известкованной почве. Только растения с дозой извести 50% Н бывают меньше контрольных.

В фазе созревания плодов разница в росте растений на известкованной и известкованной почве увеличивается на обоих фонах азота.

В общем растения на фоне аммиачной формы азота меньшего роста, чем растения на фоне нитратного азота.

Влияние известкования на урожай дурмана выясняется из данных, приведенных в таблице 2. Из приведенных данных вытекает, что на фоне нитратного азота известь незначительно повышает урожай дурмана. Наибольшее повышение урожая всех органов дурмана наблюдается при дозе извести 25% Н. Повышение урожая стеблей и корней на фоне NO_3^- — не доказано.

На фоне аммиачного азота абсолютный вес урожая органов дурмана значительно меньше, чем на фоне нитратного азота, но известкование дает больший относительный эффект. Известь в дозе 25% Н больше всего повышает урожай листьев и стеблей, а доза 50% Н — урожай плодов.

Таблица 2

Влияние известкования на урожай дурмана на фоне
разных форм азота

Ф о н	Доза извест- ти в % Н	Абсолютно сухой вес в г на одно растение $\bar{x} \pm \epsilon 0,95$				Повышение урожая в %			
		Листья	Стебли	Корни	Плоды *	Ли- стья	Стеб- ли	Корни	Плоды
NO_3^-	-	$15,3 \pm 0,4$	$17,6 \pm 0,8$	$5,76 \pm 0,29$	$127,6 \pm 5,6$	0	0	0	0
	25	$16,3 \pm 0,5$	$19,8 \pm 0,6$	$6,40 \pm 0,39$	$134,8 \pm 2,8$	6,5	12,5	11,1	5,6
	33,3	$16,1 \pm 0,6$	$19,6 \pm 0,7$	$6,45 \pm 0,42$	$133,2 \pm 5,0$	5,0	11,2	12,0	4,4
	50	$16,0 \pm 0,5$	$18,7 \pm 0,9$	$6,12 \pm 0,38$	$129,9 \pm 4,9$	4,5	6,3	6,1	1,8
NH_4^+	-	$10,0 \pm 0,6$	$12,3 \pm 0,7$	$3,59 \pm 0,33$	$81,6 \pm 5,8$	0	0	0	0
	25	$11,9 \pm 0,6$	$15,1 \pm 0,6$	$5,04 \pm 0,39$	$109,8 \pm 5,5$	19,0	22,7	40,3	34,6
	33,3	$10,9 \pm 0,6$	$15,0 \pm 0,6$	$4,78 \pm 0,35$	$116,3 \pm 3,8$	9,0	22,0	33,0	42,5
	50	$11,3 \pm 0,6$	$14,3 \pm 0,5$	$4,97 \pm 0,29$	$123,3 \pm 4,0$	13,0	16,2	38,3	51,1

* Сырой вес.

Данные, касающиеся влияния известкования на образование алкалоидов в дурмане, приведены в таблицах 3,4,5 и 6.

Доказано повышение содержания алкалоидов больше 10%.

Из приведенных данных следует, что известь повышает содержание алкалоидов в % в органах дурмана как на фоне нитратного, так и на фоне аммиачного азота.

На обоих фонах наибольшее повышение содержания алкалоидов дает известь в дозе 25% Н, а в корнях на аммиачном фоне азота доза извести 50% Н. Как правило, с повышением дозы извести содержание алкалоидов в % падает, за исключением корней на аммиачном фоне азота, где наблюдается обратная картина.

В общем содержание алкалоидов в % в органах дурмана на фоне нитратного азота выше, чем на фоне аммиачного азота.

Содержание суммы алкалоидов в мг на одно растение также повышается под влиянием известкования на обоих фонах (см.табл.6). Максимальное повышение содержания алкалоидов дает доза извести 25% Н на обоих фонах, за исключением корней на аммиачном фоне азота, где наилучший эффект дает доза извести 50% Н.

Как и при содержании алкалоидов в %, с повышением дозы извести выше оптимального, содержание алкалоидов в органах дурмана в мг на одно растение понижается, кроме корней на аммиачной форме азота, где содержание алкалоидов с повышением дозы извести растет.

Обсуждение результатов

Полученные данные о влиянии извести на дурман обыкновенный на фоне нитратного и аммиачного азота показывают важное значение извести для развития растения и образования алкалоидов в дурмане.

На основе вышеизложенного можно сделать заключение, что нитратный азот по сравнению с аммиачным азотом значительно эффективнее влияет на рост дурмана и на образование алкалоидов.

Таблица 3

Влияние известкования на содержание суммы алкалоидов
в дурмане на фоне разных форм азота

Ф о н	Доза известки в % Н	Содержание суммы алкалоидов на абсолютно сухой вес в % $\bar{x} \pm \epsilon_{0,95}$			Повышение содержания суммы алкалоидов в %		
		Листья	Стебли	Корни	Листья	Стебли	Корни
NO ₃ ⁻	-	0,198 \pm 0,009	0,046 \pm 0,002	0,120 \pm 0,005	0	0	0
	25	0,248 \pm 0,010	0,063 \pm 0,003	0,134 \pm 0,006	25,2	37,4	11,7
	33,3	0,226 \pm 0,009	0,055 \pm 0,003	0,130 \pm 0,006	14,1	21,1	8,3
	50	0,217 \pm 0,009	0,048 \pm 0,004	0,107 \pm 0,005	9,6	4,4	-10,8
NH ₄ ⁺	-	0,104 \pm 0,007	0,039 \pm 0,002	0,072 \pm 0,004	0	0	0
	25	0,132 \pm 0,006	0,049 \pm 0,003	0,0790 \pm 0,005	26,9	25,5	9,2
	33,3	0,123 \pm 0,007	0,035 \pm 0,007	0,079 \pm 0,006	18,3	-9,2	9,7
	50	0,103 \pm 0,005	0,027 \pm 0,002	0,098 \pm 0,005	-1,0	-30,8	35,8

Таблица 4

Влияние известкования на содержание гиосциамина
в дурмане на фоне разных форм азота

Формы азота	Доза известкования в % Н	Содержание гиосциамина на абсолютно сухой вес в % $\bar{x} \pm \sigma_{0,95}$			Повышение содержания гиосциамина в %		
		Листья	Стебли	Корни	Листья	Стебли	Корни
NO ₃ ⁻	-	0,187 \pm 0,006	0,045 \pm 0,002	0,0910 \pm 0,004	0	0	0
	25	0,234 \pm 0,010	0,058 \pm 0,002	0,102 \pm 0,004	25,1	28,7	12,1
	33,3	0,214 \pm 0,009	0,050 \pm 0,002	0,101 \pm 0,003	14,4	11,8	11,0
	50	0,204 \pm 0,006	0,043 \pm 0,003	0,084 \pm 0,003	9,1	-5,6	-8,2
NH ₄ ⁺	-	0,082 \pm 0,003	0,034 \pm 0,002	0,061 \pm 0,003	0	0	0
	25	0,110 \pm 0,007	0,044 \pm 0,003	0,061 \pm 0,002	33,5	28,3	0,3
	33,3	0,104 \pm 0,006	0,031 \pm 0,003	0,058 \pm 0,003	27,9	-10,0	-4,1
	50	0,083 \pm 0,006	0,022 \pm 0,003	0,070 \pm 0,004	2,6	-35,4	14,9

Влияние известкования на содержание скополамина
в дурмане на фоне разных форм азота

Таблица 5

По	Доза извест- ки в г/м ²	Содержание скополамина на абсолютно сухой вес в % $\bar{x} \pm \sigma_{0,95}$			Потышения содержания ско- поламина в %		
		Листья	Стебли	Корни	Листья	Стебли	Корни
NO ₃ ⁻	-	0,011 \pm 0,0008	0,0047 \pm 0,0004	0,029 \pm 0,001	0	0	0
	25	0,014 \pm 0,0008	0,0050 \pm 0,0004	0,032 \pm 0,001	27,2	6,4	12,5
	33,3	0,014 \pm 0,0008	0,0048 \pm 0,0006	0,029 \pm 0,0011	18,4	2,1	0,3
	50	0,013 \pm 0,0007	0,0047 \pm 0,0005	0,024 \pm 0,0013	13,1	0	-18,1
NH ₄ ⁺	-	0,018 \pm 0,0007	0,0050 \pm 0,0004	0,012 \pm 0,0008	0	0	0
	25	0,023 \pm 0,0008	0,0053 \pm 0,0004	0,018 \pm 0,0009	27,6	6,0	55,0
	33,3	0,019 \pm 0,0009	0,0048 \pm 0,0005	0,021 \pm 0,0009	5,5	-4,0	80,5
	50	0,019 \pm 0,0008	0,0050 \pm 0,0004	0,024 \pm 0,001	5,5	0	100

Таблица 6

Влияние известкования на содержание суммы алкалоидов в абсолютно сухих органах растений дурмана на фоне разных форм азота

Формы азота	Доза известкования в % Н	Содержание алкалоидов в мг на одно растение $\bar{x} \pm \sigma$			Повышение содержания алкалоидов в %		
		Листья	Стебли	Корни	Листья	Стебли	Корни
NO_3^-	-	$30,29 \pm 1,57$	$8,00 \pm 0,50$	$6,91 \pm 0,45$	0	0	0
	25	$40,42 \pm 2,04$	$12,38 \pm 0,58$	$8,58 \pm 0,65$	33,4	54,8	24,2
	33,3	$36,39 \pm 1,98$	$10,80 \pm 0,71$	$8,39 \pm 0,67$	20,1	35,0	21,4
	50	$34,72 \pm 1,78$	$8,88 \pm 0,85$	$6,55 \pm 0,51$	14,6	11,1	10,8
NH_4^+	-	$10,40 \pm 0,94$	$4,78 \pm 0,37$	$2,60 \pm 0,22$	0	0	0
	25	$15,71 \pm 1,06$	$7,37 \pm 0,53$	$4,25 \pm 0,40$	51,1	54,2	63,5
	33,3	$13,41 \pm 1,06$	$5,30 \pm 0,36$	$3,79 \pm 0,42$	28,9	10,9	45,8
	50	$11,64 \pm 0,84$	$3,82 \pm 0,32$	$4,62 \pm 0,37$	11,9	-20,0	77,6

дов в дурмане. Поэтому эффект от известкования на фоне нитратного азота относительно меньше, чем на фоне аммиачного азота.

Характерно, что растения дурмана на неизвесткованной почве в начальных фазах развития большего роста, чем на известкованной почве. Это явление наблюдается на обоих фонах азота, причем, чем выше доза извести, тем меньше рост растений. Только в фазе образования плодов рост растений на неизвесткованной почве отстает от роста растений на известкованной почве. Это явление, по-видимому, можно объяснить тем, что известь уменьшает доступность некоторых микроэлементов, влияющих на рост дурмана.

В фазе образования плодов, однако, начинает уже сказываться некоторый недостаток кальция в кислой неизвесткованной почве, поскольку органы дурмана содержат много кальция и удаляют его из почвы в значительном количестве.

В результате рост дурмана на кислой неизвесткованной почве замедляется.

Известь положительно действует на образование алкалоидов в дурмане на обоих фонах азота. Очень характерно, что доза извести 25% N является оптимальной для образования алкалоидов в дурмане.

Только на фоне аммиачного азота содержание алкалоидов в корнях дурмана было наиболее высоким при дозе извести 50% N.

Чем объяснить такое явление? Можно предположить, что при дозе извести 25% N создаются оптимальные условия для биосинтеза алкалоидов в дурмане.

Выводы

- I. Известкование кислой почвы не ускоряет динамику роста дурмана обыкновенного до фазы образования плодов ни на фоне нитратного, ни на фоне аммиачного азота.

2. Растения дурмана на фоне нитратного азота имеют более интенсивный рост, чем на фоне аммиачного азота.
3. Известкование кислой почвы повышает урожай всех органов дурмана как на фоне нитратного, так и на фоне аммиачного азота.
4. Известь повышает урожай всех органов дурмана на фоне аммиачного азота больше, чем на фоне нитратного азота.
5. Наибольшее повышение урожая всех органов дурмана дает доза извести 25% N на обоих фонах азота.
6. Наибольшее повышение содержания алкалоидов в % во всех органах дурмана, кроме корней на фоне аммиачного азота, дает известь в дозе 25% N как на фоне нитратного, так и на фоне аммиачного азота. Для корней на фоне аммиачного азота наибольшее содержание алкалоидов дает доза в 50% N. Содержание алкалоидов в % на фоне нитратного азота заметно больше, чем на фоне аммиачного азота.

Литература

1. Прянишников Д.Н. Агрохимия. М., 1940.
2. Hallik. O. Agrokeemia. Tln., ERK, 1963.
3. Gouny, P. Observations sur les particularités de l'alimentation ammoniacale en l'absence et en présence de calcaire. - "Ann. Inst. nat. rech. agron.", 1955, A6, Nr. 4, 589 - 614.

LUPJAMISE MÕJUST OKASÕUNA DATURA STRAMONIUM L.
KASVUDÜNAAMIKALE, SAAGILE JA ALKALOIDIDE-
SISALDUSELE ERINEVA LÄMMASTIKU FOONIL

I. Tammaru

R e s ü m e e

Nagu näitasid nõukatsed, soodustas happelise mulla ($\text{pH}_{\text{KCl}} = 4,75$) lupjamine puhta kaltsiumkarbonaadiga hari-liku okasõuna kasvu ja tõstis saaki nitraatlämmastiku foonil rohkem kui ammooniumlämmastiku foonil. Lubja kasvusoodustav toime ilmes NO_3^- -foonil alles viljade moodustumise, NH_4^+ -foonil aga viljade valmimise faasis. Parimat efekti avaldas lubja kogus 25 % mulla hüdrolüütilise happesuse järgi (H), annus 50 % H aga mõjus kasvule pidurdavalt juba alates õienupk-faasist ja tõstis saaki vähem.

Okasõuna alkaloididesisaldus tõusis kõige enam lubja koguse 25 % H mõjul mõlema lämmastiku foonil, kusjuures alkaloididesisaldus oli NO_3^- -foonil märgatavalt kõrgem kui NH_4^+ -foonil.

PROLIINI KVANTITATIIVSEST PABERKROMATOGRAAFILISEST MÄÄRAMISEST

V. Koppel

Aminohapete määramisel biomaterjalis kasutatakse laialdaselt paberchromatograafilist meetodit. Aminohapete laikude nähtavakstegemiseks kromatogrammidel leiab kõige enam rakendamist ninhüdrinreaktiiv. Võrreldes α -aminohapetega on ninhüdrinreaktiiv α -iminohapete (proliini, hüdroksüproliini) suhtes vähem tundlik ning annab viimastega happelises keskkonnas kollase värvusega laigud, mitte punakas-violetsed nagu enamiku teiste aminohapetega. Kui kvantitatiivse sisalduse kolorimeetriliseks määramiseks on vaja kromatogrammist elueerida ninhüdrinreaktiiviga ilmutatud aminohapete laigud, pole helekollase värvusega proliini eluadid selleks sobivad. Paljude biokeemiliste analüüside, eriti taimematerjali uurimisel on sageli olulise tähtsusega proliini jt. α -iminohapete täpne kvantitatiivne määramine. Näiteks on kindlaks tehtud, et proliini tekib taimekudedes rohkesti tolmukate arenemisel (1), veepuudusel pinnases (2), et proliin võtab osa tropaanalkaloidide biosünteesist okasõunataimedes (4) jne.

Aminohapete samastamiseks paberchromatogrammidel kasutatakse ka reaktsiooni isatiiniga (5), mis annab erinevate aminohapetega enam diferentseeritud värvusi (3) kui ninhüdrinreaktiivid. Isatiinreaktiiv on enamiku aminohapete suhtes vähem tundlik kui ninhüdrinreaktiivid. Proliini ja teiste α -iminohapete suhtes on isatiinreaktiiv tundlikum ninhüdrinreaktiividest, andes selgesti nähtava sinise

värvuse. Tekkinud värvainet fikseerivad eriti hästi tsel-luloosikiud, mistõttu värvus püsib paberchromatogrammidel pikemat aega peaaegu muutumatuks. Tsinkatsetaadi ja äädik-happe manulus isatiinreaktiivis tõstab veelgi reaktsiooni tundlikkust proliini suhtes (6). Tekkinud sinine värvaine pole vees lahustuv, mistõttu on võimalik veega pesta kro-matogrammist isatiinreaktiivi liig. Proliini ja isatiini reageerimisel tekkinud sinist värvainet on võimalik kro-matogrammist elueerida kas püridiiniga või veega küllas-tatud fenooliga.

Sellel põhimõttel töötasid Hrabetova ja Tupy (7) väl-ja meetodi proliini kvantitatiivseks määramiseks isatiin-reaktiiviga ilmutatud paberchromatogrammidest. Seejuures elu-eeriti proliini laigud paberchromatogrammidest veega kül-lastatud fenooliga 15 minuti vältel ja eluaatide optiline tihedus määrati fotokolorimeetriliselt punase valgusfilt-riga 610 m μ juures. Kuna elueeritud värvaine valguse toi-mel võrdlemisi kiiresti laguneb, teostati elueerimine pi-medas. Autorite andmeil on meetodi täpsus $\pm 2,5$ %. Samuti tehti kindlaks, et eluaatide värvuse intensiivsus ei muu-tu oluliselt ühe tunni vältel, arvates elueerimise algusest (7).

Käesoleva töö ülesandeks oli võimaluste leidmine isa-tiinreaktiiviga ilmutatud proliini paberchromatogramme eluaatide värvuse püsivamaks muutmiseks, kusjuures märki-misväärselt ei vähene elueerimise kiirus. See asjaolu on oluline, kui tuleb teha seeriaviisilisi katseid proliini määramiseks biomaterjalis ning 30 - 40-minutisest ajast ei jätku kõigi eluaatide kolorimeetriliseks määramiseks.

E k s p e r i m e n t a a l n e o s a

Kromatograafilisele paberile FN-15 ("Niederschlag") kanti stardipunktidesse uuritavat aminohappeid sisaldavat lahust ja võrdluslahust kogustes, mis vastasid 4 kuni 20 g proliinisisaldusele. Seejärel voolutati paber läbi 3 kor-

da tõusval meetodil lahustisüsteemiga n-butanool-äädikhapevesi (4:1:5) - kokku 60 tundi. Pärast kuivatamist niisutati kromatogrammid isatiinreaktiiviga Barrolier' järgi (6). (Koostis: 1 g isatiini, 1,5 g tsinkatsetaati ja 1 ml jää-äädikhapet lahustada 5 ml vees soojendamisel $+70^{\circ}$ $+80^{\circ}$ C juures. Lisada 95 ml isopropanooli). Seejärel soojendati kromatogramme veeauruga küllastatud termostaadis 30 min. $+80^{\circ}$ $+85^{\circ}$ C temperatuuril. Pärast ilmutamist eemaldati isatiinreaktiivi liig pesemisel sooja ($+30^{\circ}$ C) veega, kuni saadi valge või nõrgalt kollakas paberifoon. Pestud kromatogrammid kuivatati algul toatemperatuuril ja lõplikult $+60^{\circ}$ $+70^{\circ}$ C juures kuivatuskapis. Sinised proliinilaigud lõigati välja, peenestati ja elueeriti pimedas kahel meetodil: 1) loksutamisel 15 minuti kestel 3 ml veega küllastatud fenooliga ja 2) loksutamisel 30 minuti kestel 3 ml veega küllastatud fenooli ja püridiini seguga (vahekorras 0,6:1,4). Esimesel meetodil saadud proliini eluaatide optiline tihedus määrati fotoelektrokolorimeetriga FEK-M punase valgusfiltriga nr. 4 (650 m μ) küvettides läbimõõduga 0,5 cm. Teisel meetodil saadud eluaatide optiline tihedus määrati samal kolorimeetril samasugustes küvettides neutraalse (kollase) valgusfiltriga nr. 1. Võrdluseluaadid tehti samade lahustitega samade kromatogrammide paberi värvumata aladest. Eluaatide värvuste stabiilsuse kontrollimiseks tehti optilise tiheduse määramised erinevate ajavahemike möödumisel. Määramistulemused mõlema meetodi järgi on toodud tabelis. (Vt. tabel lk.44.)

Katsed näitasid, et isatiinreaktiiviga ilmutatud proliini paberikromatogrammide elueerimisel veega küllastatud fenooli ja püridiini seguga (vahekorras 0,6:1,4) on eluaatide värvus pimedas keskmiselt 2 korda püsivam kui elueerimisel ainult veega küllastatud fenooliga. Kromatogrammid on soovitatav elueerida pimedas 30 minuti kestel, aeg-ajalt loksutades, mis tagab värvaine täieliku elueerimise paberist. Mainitud aja vältel eluaatide optiline tihedus praktiliselt ei vähene. Optilise tiheduse vähenemist tuleb arvestada elu-

aadi seisemisel üle 1 tunni, kusjuures vähema proliinisisaldusega (alla 8 μ g) eluaatides on optilise tiheduse alanemine kiirem kui suurema sisaldusega eluaatides.

Määramistulemuste alusel fenooli-püridiini seguga koostati gradueerimisgraafik, mis näitas, et optilise tiheduse lineaarne sõltuvus kehtib proliinisisalduse puhul kuni 12 μ g paberchromatogrammid.

Meetodi täpsus on $\pm 2\%$.

Isatiinreaktiiviga ilmutatud proliini paberchromatogrammi eluaatide optilise tiheduse määramise tulemused

Elueerimislahus	Proliini hulk μ g	FEK näit. E	FEK näit. 1 tund pärast elueerimise lõpetamist	Eluaadi optilise tiheduse vähenemine %	FEK näit. 3 tundi pärast elueerimise lõpetamist	Eluaadi optilise tiheduse vähenemine %
Fenool (veega küllastatud)	4	0,075	0,070	6,6	0,055	26,6
"	8	0,145	0,142	2,1	0,117	19,3
"	12	0,223	0,220	1,3	0,185	17,0
"	20	0,250	0,248	0,8	0,220	12,0
Fenool (veega küllastatud) + püridiin (0,6:1,4)	4	0,077	0,075	2,6	0,067	13,1
"	8	0,154	0,152	1,3	0,140	9,1
"	12	0,230	0,230	0	0,215	6,5
"	20	0,300	0,300	0	0,285	5

J ä r e l d u s e d

1. Isatiinreaktiiviga ilmutatud proliini paberchromatogrammide elueerimisel veega küllastatud fenooli ja püridiini seguga (vahekorras 0,6:1,4) on eluaatide värvus pimedas keskmiselt 2 korda püsivam kui elueerimisel veega küllastatud fenooliga Hrabetova ja Tupy (?) meetodil.

2. Kromatogrammide täieliku elueerimise tagamiseks on soovitatav elueerida pimedas 30 minuti vältel, aeg-ajalt loksutades.

3. Optilise tiheduse vähenemine algab madala proliini-sisaldusega (alla $8 \mu\text{g}$) eluaatides pärast ühe tunni möödumist elueerimise lõpust.

4. Optilise tiheduse määramisel fenooli-püridiini seguga eluaatides elektrofotokolorimeetriga FEK-M tuleb kasutada neutraalset (kollast) valgusfiltrit nr. 1.

K i r j a n d u s

1. Бритиков, Е.А., Мусатова, Н.А. Физиол. растений, т. 12, 464 (1964).
2. Савицкая, Н.Н. Физиол. растений, т. 14, вып. 4, с. 737-739, (1967).
3. Бояркин, А.А. Физиол. растений, т. 5, вып. I, с.86-87 (1958).
4. Sullivan, G.; Gibson, M.R. J. Pharmac. Sci., 53, 9, 1058 - 1063 (1964).
5. Acher, R.; Fromageot, C.; Jutisz, M. Biochim. Biophysica Acta (Amsterdam), 5, 81 (1950).

6. Barrollier, J.; Heilman, J.; Watzke, E. Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem., 304, 21 (1956).
7. Hrabetova, E.; Тупы, J. J. Chromatogr. (Amsterdam), 3, 199 (1960).

О КОЛИЧЕСТВЕННОМ ОПРЕДЕЛЕНИИ ПРОЛИНА МЕТОДОМ ХРОМАТОГРАФИИ НА БУМАГЕ

В. Коппель

Резюме

Исследовалось количественное фотоселектроколориметрическое определение пролина в элюатах бумажных хроматограмм, проявленных изатином.

Было установлено, что при элюции бумажных хроматограмм смесью из фенола и пиридина (0,6:1,4), насыщенное водой синее окрашивание элюатов в среднем 2 раза устойчивее, чем при элюции без примеси пиридина. Элюировать следует в темноте время от времени взбалтывая в течение 30 минут. Линейная зависимость оптической плотности элюатов имеется до содержания 12 микрограмм пролина в пятне хроматограммы. Точность метода $\pm 2\%$

MEETOD C^{14} RADIOAKTIIVSUSE MÄÄRAMISEKS PABERKROMATOGRAMMIDEL

V. Koppel, J. Elmelo

Radioaktiivset süsinikku kasutatakse laialdaselt mitmesuguste bioloogiliste protsesside uurimisel. Eriti palju rakendatakse süsiniku isotoopi C^{14} orgaaniliste ühendite biosünteesi käigu analüüsil organismides. Radioaktiivse süsinikuga märgistatud biosünteesi-produktide eraldamiseks on laialdast kasutamist leidnud paberkromatograafia. Viimase puhul tuleb aga arvestada isotoobi C^{14} beetakiirguse väikest energiat ($E_{\max} = 0,155 \text{ MeV}$), mistõttu suur osa β -osakestest neeldub kromatograafilises paberis. Näiteks moodustab C^{14} - β -osakeste absorptsioon paberis Whatman № 1 61,2% (3).

Märgistatud biosünteesi-produktide radioaktiivsuse määramist paberkromatogrammidel kasutatakse laialdaselt, alates selle meetodi väljatöötamisest 1948. a. (4) ja eriti seoses M. Calvini jt. uurimustega fotosünteesi alal (5).

Väikese energiaga β -kiirguste registreerimisel on võrreldes Geiger-Mülleri loendajatega tundlikumad fotoelektronkordistajad. Viimaseid kasutatakse nõrkade beeta- ja alfa-kiirguste registreerimiseks stsintillatsioonimeetoditel (1, 2, 6, 7). Seejuures niisutatakse kromatogrammid stsintillaatorilahustega või -geelidega ja kinnitatakse fotoelektronkordistaja aknale. Sellise meetodi korral on C^{14} beetakiirguse registreerimise efektiivsus kuni 35 % (1). Stsintillaatorilahustega või -geelidega käsitletud kromatogramme pole hiljem võimalik kasutada värvusega ühendite elueerimiseks kromatogrammilaikest kvantitatiivse sisalduse määramiseks.

Kui on vaja säilitada kromatogramme edasiseks laikude elueerimiseks, tuleb piirduda nende radioaktiivsuse määramisega Geiger-Mülleri loendajatega. Otsmise aknaga Geiger-Mülleri loendajad (akna paksus 2 mg/cm^2) registreerivad paberkromatogrammidel keskmiselt umbes $4\% \text{ C}^{14}$ koguaktiivsusest (sõltuvalt paberi paksusest) (8). Seejuures registreeritakse põhiliselt kromatogrammi paberi pinna läheduses oleva radioaktiivse süsiniku β -osakesed. On kindlaks tehtud, et paberkromatogrammi kuivatamisel liikumatus õhus koondub enamik radioaktiivse süsinikuga märgistatud ainet paberi pinnale, kusjuures kromatogrammi β -aktiivsuse määramisviga Geiger-Mülleri loendajaga moodustab ainult kuni 5% . Kromatogrammi kuivatamisel liikuvast õhuvoolust on määramisviga kuni 25% (9).

Süsiniku radioaktiivsuse registreerimise efektiivsust paberkromatogrammidel on võimalik tunduvalt tõsta, kui loendada kromatogrammi mõlemalt poolelt väljuvaid β -osakesi. Selleks on vaja mõõtmisseadeldist, milles saame asetada kromatogrammi kahe loendaja aknauste vahele.

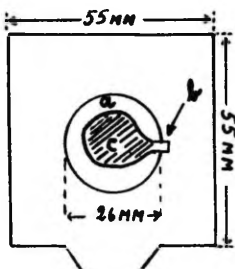
M õ õ t e r i i s t a d j a r a d i o - a k t i i v s u s e m ä ä r a m i s e m e t o o d i k a

C^{14} radioaktiivsuse määramiseks paberkromatogrammidel kasutati väikese fooniga loendusseadeldist UMF-2 (valmistatud NSV Liidu Tervishoiuministeeriumi Biofüüsika Instituudi Eksperimentaaltöökojas 1963. a.). Seadeldis on varustatud antikointsidentsi skeemiga, otsmise aknakesega Geiger-Mülleri loendajaga SBT-13 ning foon ei ületa 5 impulssi minutis. Radioaktiivse süsiniku C^{14} etalonpreparaadi β -aktiivsuse määramise efektiivsus moodustas $12,4 \pm 1,5\%$.

Paberkromatogrammi radioaktiivsuse mõõtmiseks monteeriti seadeldisele juurde veel teine loendaja SBT-13 nii, et mõlema loendaja A ja B aknad asusid vastastikku (akendevaheline kaugus 4 mm).

Katseteks kasutati radioaktiivse süsinikuga märgistatud okasõuna (*Datura stramonium* var. *stramon.* L) alkaloidide, mis eraldati taimematerjali kloroformekstraktist elektroforeesiga kromatograafilisel paberil M (Lenin-gradi Volodarski-nim. paberivabrik). Elektroforegrammid kuivatati temperatuuril +40° C kuivatuskapis ning ilmutati Dragendorffi reaktiiviga Traberti modifikatsioonil (10). Kui vanud elektroforegrammidelt lõigati välja alkaloidide atropiini (dl-hüostüümiini) ja skopolamiini laigud, jättes iga laigu külge 2 - 3 mm pikkuse pabeririba-kese. Valmistati kartongist alus paksusega 0,5 mm, mille keskosas asus ümmargune ava diameetriga 26 mm. Elektroforerogrammilt lõigatud laigu külge jäetud ribakene kinnitati liimiga kartongist aluse ava kohale (vt. joon.). Nüüd asetati kromatogrammi laik koos kartongist alusega mõlema loendaja akna keste vahele ja registreeriti loendamise kiirus laigult. Saadud tulemusest lahutati fooni loendamise kiirus. Mõõtmisresultaatide võrdlemiseks elueeriti pärast loendamiskiiruste määramist samad alkaloidide jood-vismutkompleksi laigud kromatograafilisest paberist 2 ml äädikhappeanhüdroiidiga (10). 1,5 ml eluaadist viidi alumiiniumist valmistatud preparaadialusele, milles oli süvend diameetriga 18 mm. Alus asetati infrapunase lambi alla, kus lahusti aurustati. Seejärel määrati β -osakeste loendamise kiirus saadud preparaadilt samal loendus-seadeldisel. Alkaloidide elektroforegrammide ja eluaatide β -osakeste loendamiskiirused on toodud tabelis.

Katsed näitasid, et eeltoodud meetod võimaldab radioaktiivse süsinikuga märgistatud ainete paberikromatogrammi-del loendada β -osakesi keskmiselt 80 % suurema efektiivsusega kui ainult ühe otsmise aknaga Geiger-Mülleri loendajaga varustatud loendus-seadeldisega.



Joon. Alus paberkromatogrammi kiinnitamiseks radioaktiivsuse määramisel:

- a - kartongist aluse ava
b - liimimisriba
c - kromatogrammi laik

C^{14} -ga märgistatud tropaanalkaloidide elektroforegrammide β -osakeste loendamiskiirused

Kat- se nr.	Alkaloidi nimetus	Alkaloidi elekt- roforegrammi β -osakeste loen- damiskiirused imp/min	Elektrofore- grammi elu- aadi β -os. loendamis- kiirused imp/min	Elektrofore- grammi ja eluaadi loen- damiskiiruste suhe
1	Atropiin	5,0	3,2	1,56
2	"	6,6	3,9	1,69
3	"	9,3	6,5	1,43
4	"	14,2	9,6	1,48
5	"	36,3	25,0	1,45
6	Skopolamiin	35,4	17,4	2,03
7	"	76,3	38,1	2,0
8	"	85,9	45,9	1,87
9	"	176,5	80,6	2,19
10	"	235,7	105,8	2,23

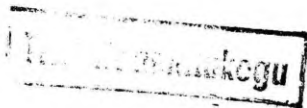
J ä r e l d u s e d

1. C^{14} radioaktiivsuse suhteliseks määramiseks paber-kromatogrammidel võib kasutada loendusseadeldist UMF-2, millele on monteeritud kaks otsmise aknaga loendajat, kusjuures kromatogramm asetatakse mõlema loendaja vahele.

2. Radioaktiivsuse loendamisseadeldis UMF-2, millel on 2 loendajat SBT-13 vastastikku asuvate aknakestega, võimaldab määrata paberkromatogrammidel radioaktiivse süsiniku β -osakesi keskmiselt 80 % suurema efektiivsusega kui kromatogramtide eluaatidest valmistatud preparaates ühe loendaja abil.

K i r j a n d u s

1. Смирнов В.Ф. Заводская лаборатория, 8, с.989-995 (1958).
2. Дариенко Е., Мезенцев А.И., Семенов Т.В., Тарасенко В.Д., Ткачев Л.В., Югель А.А., Свердловский мед. ин-т. Сборник трудов, вып.39, с.197-205 (1963).
3. Berliner, D.L., Dominquez, O.W., Westenkow, G. Analytical Chemistry, 29, 1797 (1957).
4. Fink, R.M., Fink, K. Science, 107, 253 (1948).
5. Stepka, W., Benson, A.A., Calvin, M. Science, 108, 304 (1948).
6. Willenbrink, J. Internat. J. Appl. Radiat. and Isotopes, 14, № 4, 231-238 (1963).



7. Keil, B., Sormova, Z. Laboratoriumstechnik für Biochemiker, S. 344-345, Leipzig (1965).
8. Scharpenseel, H.W., Menke, K.H. Fresenius Zeitschr. für analyt. Chemie, 180, 2, 81-96 (1961).
9. Bidwell, R.G.S. Canad. J. Bot., 39, 3, 607-610 (1961).
10. Trabert, H. Naturwissenschaften, 43, 351, 1956.

МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ РАДИОАКТИВНОСТИ C^{14}
НА БУМАЖНЫХ ХРОМАТОГРАММАХ

В.Коппель, И.Эльмело

Резюме

Предлагается новый метод определения радиоактивности C^{14} на бумажных хроматограммах с двух сторон хроматограммы при помощи двух счетчиков импульсов СБТ-13 и радиометра УМФ-2. Метод является в среднем на 80% более эффективным, чем счет импульсов препаратов, приготовленных из элюатов хроматограммы при помощи только одного счетчика.

RADIOAKTIIVSE SÜSINIKU ASSIMILEERIMISEST OKASÕUNA LEHTEDES FOTOSÜNTEESIL

V. Koppel

Taimede ainevahetuse uurimisel on kasvav tähtsus radioaktiivsete isotoopide, eriti süsiniku isotoobi C^{14} kasutamisel. Alates 1947. aastast Calvini, Bensoni (18, 19), hiljem Nesgovorova (1,2), Kuzini ja Merenova (3), Kursanovi ja Turkina (4,5), Nitšiporovitši (6), Vosnessenski (7) jt. katsetest, on märgistatud süsinikdioksiid $C^{14}O_2$ leidnud ulatuslikku rakendust mitmesuguste taimede fotosünteesiproduktide uurimisel. Seda kasutatakse ka alkaloidide kui sekundaarsete fotosünteesiproduktide biogeneesi määramiseks (8, 9). On leitud, et $C^{14}O_2$ transformeerub taimedes fotosünteesil kiiresti paljudesse orgaanilistesse ühenditesse - süsivesikutesse, orgaanilistesse hapetesse, valkudesse jne. (10).

$C^{14}O_2$ assimileerimist fotosünteesil taimede poolt on kasutatud radioaktiivse süsinikuga märgistatud süsivesikutel, klorofüllil, aminohapetel ja alkaloidide laboratoorseks tootmiseks (8, 11).

Taimede fotosünteesiproduktide biokeemilisel uurimisel on sobivamaks ja täpsemaks osutunud radiokromatograafiline meetod (11). Käesoleval ajal on kindlaks tehtud, et primaarsed fotosünteesiproduktid on erinevat liiki kõrgematel taimedel üldiselt sarnased. Taimede eksponeerimisel radioaktiivse süsinikdioksiidi atmosfääris on leitud, et erinevatel taimeliikidel esineb tunduvalt erinevusi fotosünteesiproduktide kvantitatiivseis ja kvalitatiivseis koostis-

tes, mis sisaldavad märgistatud süsinikku. Näiteks mõnel taimeliigil liitub assimileeritud C^{14} peamiselt oligosahhariididesse, samal ajal teistes taimeliikides oligosahhariidid ei sisalda peaaegu üldse radioaktiivset süsinikku (12). C^{14} jaotumine fotosünteesiproduktide vahel sõltub suurel määral taimede arengufaasist, füsioloogilisest seisundist ja välistingimustest (13). Seepärast on fotosünteesi uurimisel olulise tähtsusega püsiva temperatuuri ja valgustuse, ühtlase CO_2 kontsentratsiooni jne. olemasolu. Enamikul taimedel seotakse fotosünteesi protsessis suurem hulk C^{14} süsivesikute koostisse (Turkina, 13). Tunduv osa C^{14} aga kasutatakse aminohapete sünteesiks koos viimaste liitumisega taimevalkudesse (14).

On teada, et alkaloidid sünteesitakse taimedes peamiselt aminohapetest, kusjuures okasõuna (*Datura stramonium* L.) alkaloidid hüostüamiin (atropiin) ja skopolamiin moodustatakse ornitiinist (21, 22). Viimasest ehitatakse nimelt tropiini pürrolidiintsüklitel. Katsed on näidanud, et okasõuna liigid võivad peaalkaloidide moodustada ka aminohappest prolinist, mis eelnevalt on liitunud valkudesse (23). Eltloodust järeldub, et alkaloidide biosünteesi uurimisel on vajalik analüüsida aminohapete jt. primaarsete fotosünteesiproduktide moodustumist taimedes. Kasutades seejuures radioaktiivset süsinikdioksiidi, on oluline teada, kui kiiresti omandavad fotosünteesi produktid maksimaalse hulga C^{14} .

Käesoleva töö eesmärgiks oli kindlaks määrata radioaktiivse süsiniku assimileerimist fotosünteesil eemaldatud õitega hariliku okasõuna (*Datura stramonium* L.) lehtede süsivesikutes ja vabades aminohapetes taimede eksponeerimisel $C^{14}O_2$ atmosfääris.

Katsematerjal ja katsetingimused

Katseteks kasutati hariliku okasõuna taimi 9. - 10. vegetatsiooninädalal. Taimedel eemaldati õiepungad enne õite puhkemist ning katsetaimed valiti ühtlase arengufaasiga ja suurusega (lehtede välispindala 25 - 28 dm²). Taimede maapealne osa suleti orgaanilisest klaasist boksi, mille kaas koosnes kahest osast ja oli viimaste kokkulükkamisel suletav nii, et taime varre alumine osa jäi boksiist välja, läbides kaanepoolte keskel oleva ava. Seepärast polnud vaja taimi pottides boksi asetada ning taimed kasvasid normaalselt peenardel. Boksi toetus vajalikus kõrguses statiivile. Boksi kaane servad ja ava hermetiseeriti kummitihendi ja plastiliiniga. Boksi maht oli 36 liitrit. Katsed tehti suvel päikesepaistelise ilmaga (välistemperatuur + 18° C, valgustustugevus 40 000 - 50 000 luksit). Radioaktiivse süsinikdioksiidi saamiseks kasutati BaC¹⁴O₃ aktiivsusega 100 mikroküriid. Viimane viidi kolbi, milles asus mitteradioaktiivne BaCO₃. Tilklehtri abil lisati kolbi piimhapet ning eralduv radioaktiivne süsinikdioksiid juhiti koos mitteradioaktiivse CO₂-ga taimede boksi. CO₂ kontsentratsioon boksis hoiti 0,3 - 0,4 % piires (mahu järgi). Boksi taimedega jahutati väljastpoolt külma veega, jälgides, et temperatuur boksis ei ületaks +23° C. Gaasisegu boksis seegati väikese ventilaatori abil.

Taimi eksponeeriti C¹⁴O₂ atmosfääris 3, 6, 24, 48 ja 120 tundi. Osa taimelehti fikseeriti kohe pärast eksponeerimist, osa aga 1 kuni 17 ööpäeva möödumisel pärast taimede boksiist eemaldamist. Selle aja kestel arenesid taimed peenardel normaalingimustes. Lehed koguti taimedelt hommikuti kuiva ilmaga ning fikseeriti kindel kaalutis (5 g) otsekohe keeva 96%-lise etanooliga. Fikseeritud taimematerjal peenestati uhmris, viidi kvantitatiivselt 80%-lise eta-

nooliga (40 ml) mõõtekolbi (mahuga 100 ml) ja soojendati termostaadis $+60^{\circ}\text{C}$ -ril üks tund. Seejärel jäeti etanoolne väljatõmmatis toatemperatuuril üheks ööpäevaks seisma, aeg-ajalt loksutades. Vedelik valati teise anumasse nii, et taimematerjal kaasa ei läinud. Mõõtekolbi lisati uuesti 40 ml 80%-list etanooli ja korraldati ekstraheerimist analoogiliselt eelmisega. Seejärel lisati mõõtekolbi esimene väljatõmmatis, anum loputati 2 korda 5 ml 80%-lise etanooliga, mis ühendati ekstraktsioonivedelikuga. Mõõtekolb täideti 80%-lise etanooliga margini, suleti ja jäeti seisma toatemperatuuril veel 2 ööpäevaks, aeg-ajalt loksutades. Sellega saavutati süsivesikute ja aminohapete ühtlane kontsentratsioon ekstraktsioonivedelikus ja taimematerjalis. Väljatõmmatis filtrititi läbi väikese paberfiltrit (Ø 4–5 cm), viimane kaeti pealt klaasplaadikesega ning esimesed 4–5 ml filtraati eemaldati. Filtraadist võeti pipetiga 50 ml (vastab 2,5 g taimelehtedele), viidi see tilklehtrisse ja lasti läbi vastavalt ettevalmistatud (18) kationiidi KU-2 (H^+ vorm) samba kiirusega üks tilk 5 – 8 sekundis (samba pikkus 15 cm, läbimõõt 8 mm, ioniidi hulk 3,5 – 4 g). Saadi fraktsioon I, mis sisaldas süsivesikuid ja orgaanilisi happeid. Aminohapped seoti kationiidil. Sammas pesti 3 korda 10 ml veega, mis lisati fraktsioonile I. Eraldumise kontrollimiseks aurustati viimne samba pesemisvesi veevannil ja jäägis teostati teim süsivesikutele aniliinftalaatreaktiiviga. Viimane oli negatiivne. Samba pesemisvee aurustusjääk ei andnud ninhüdriinreaktiiviga positiivset reaktsiooni aminohapetele. Seejärel voolutati kationiidisammas läbi 100 ml 4n soolhappelahusega – saadi fraktsioon II, mis sisaldas aminohappeid. Kontrollteim näitas, et aminohapped olid sambast täielikult eraldatud. Fraktsioon I aurustati vaakuumis ($+40^{\circ}\text{C}$ $+50^{\circ}\text{C}$) ja fraktsioon II veevannil kuivaks. Kuivjäägid lahustati 3 ml vees, filtrititi läbi väikese paberfiltrit (Ø 2 cm), lisati konserveerimiseks kristallike tümooli ja säilitati külmutuskapis kuni kromatograafilisele paberile kandmiseni.

S ü s i v e s i k u t e j a a m i n o h a p e t e
p a b e r k r o m a t o g r a a f i l i n e
m ä ä r a m i n e

Süsivesikuist määrati okasõuna lehtedes glükoos. Määramiseks kasutati kromatograafilist paberit "keskmine" (Leningradi Volodarski-nim. tehas), millele kanti igasse startipunkti 0,02 ml fraktsioonist I saadud süsivesikuid sisaldavat lahust. Kromatogrammide valmistati mõõtmatega 14x30 cm ja voolutati läbi tõusval meetodil seguga n-butanool-äädikhape-veesi (4:1:5) kolmel korral, iga kord 9 tundi ($t^{\circ} +20^{\circ} +21^{\circ} \text{ C}$). Kontrolliks kanti paberile 0,2%-list puhta glükooosi lahust 20%-lises etanoolis. Kromatogrammide ilmutati aniliin-ftalaatreaktiiviga, soojendades termostaadis $+80^{\circ} \text{ C}$ juures 30 min. Glükooosi laigud ($R_f = 0,36$) elueeriti 3 ml jää-äädikhappega 48 tunni kestel temperatuuril $+20^{\circ} \text{ C}$. Eluaatide optiline tihedus määrati fotokolorimeetril FEK-M sinise valgusfiltriga kuvettides paksusega 0,5 cm. Glükooosisisaldus leiti standardlahustega võrdlusele kalibreerimiskõveral (16). Glükooosi C^{14} radioaktiivsus määrati pärast 1 ml eluaadi infrapunase lambiga kuivaksaurutamist radiomeetriga DP-100 loendajaga SBT-13 (preparaadi pindala $2,5 \text{ cm}^2$, kaugus loendaja aknast 3 mm).

Fraktsioonist II saadud lahuses määrati kvantitatiivselt okasõuna lehtedes esinevad tähtsamad aminohapped: leutsiin, valiin, proliin, glutamiinhape, asparagiinhape ja lüsiin. Lahus kanti mikropipetiga kromatograafilisele paberile FN-15 (Niederschlag) koguses, milles määratavat aminohapet sisaldus 3-15 γ . Paberit polnud vaja eelnevalt pesta 9-oksiükinoliini lahusega, sest katsed näitasid, et paberis ei sisaldunud ninhydriiniga reageerivaid lisandeid. Kromatogrammide valmistati suurusega 20 x 25 cm. Voolutati läbi tõusval meetodil seguga n-butanool-äädikhape-veesi (4:1:5) kolm korda à 12,14 ja 16 tundi (kokku 42 tundi) temperatuuril $+18^{\circ} - +19^{\circ} \text{ C}$. Kromatogrammide kuivatati toatemperatuuril 1 ööpäev. Aminohapped identifitseeriti kromatogrammidel võrdlusalahuste abil puhastest aminohapetest R_f väär-

tuste põhjal ning värvuste järgi reageerimisel ninhüdroiin- ja isatiinreaktiividega (17). Proliini kvantitatiivseks määramiseks ilmutati kromatogramm id isatiin-reaktiiviga soo jendamisel +80-+85° C juures 30 min. Reaktiivi liig pesti soo ja veega (+30°) kuni valge foonini. Proliini laigud elueeriti 3 ml veega küllastatud fenooliga pimedas 50-60 minuti kestel loksutamisel. Optiline tihedus määrati fotoelektrokolorimeetril FEK-M punase valgusfiltriga võrdluse luuadi suhtes värvumata kromatogram mipaberist küvettides paksusega 0,5 cm (24). Kalibreerimiskõ ver valmistati võrdlusel puhta proliini standardlahusega.

Ülejäänud aminohapped ilmutati ninhüdroiin-reaktiiviga, kuivatati õhus 10 min., seejärel soo jendati veeauruga küllastatud termostaadis temperatuuril +60° 30 min. Laigud elueeriti 3 ml 0,005%-lise vasesulfaadilahusega 75%-lises etanoolis 2 tunni kestel pimedas loksutamisel. Eluaadid tsentrifugiti. Aminohapete vase-kompleksi lahuste optiline tihedus määrati fotoelektrokolorimeetriga FEK-M rohelise valgusfiltriga küvettides paksusega 0,5 cm kontrollelu aadi suhtes värvumata kromatogrammi paberist (16). Kalibreerimiskõ verad valmistati vastavate puhaste aminohapete standardlahuste kromatogram mide abil sama metoodika järgi. Aminohapete R_f väärtused olid: leutsiini l 0,85; valiini l 0,70, proliini l 0,45, glutamiinhappel 0,35, aspara giinhappel 0,26 ja lüsiini l 0,15. Aminohapete C¹⁴ radioaktiivsus määrati kromatogrammi laikude eluaatidega, nagu kirjeldatud glükoo si määramisel.

Analüüsi tulemused on toodud tabelis.

Glükoosi ja vabade aminohapete sisaldus ning eriradioaktiivsused okasõunalehtedes
pärast taimede eksponeerimist $C^{14}O_2$ atmosfääris

Taimede eksponee- rimise kestus $C^{14}O_2$ -s tundides	Taimede vegetat- siooni kestus pärast eksponee- rimist ööpäeva- des	Glükoos		Leutsiin		Valiin		Proliin		Glutamiinhape		Asparagiinhape		Lüsiin	
		Sisaldus Ig toor- lehtedes µg	Eriradio- aktiiv- sus imp/ min/mg	Sisaldus Ig toor- lehtedes µg	Eriradio- aktiiv- sus imp/min/ mg	Sisaldus Ig toor- lehtedes µg	Eriradio- aktiiv- sus imp/min/ mg	Sisaldus Ig toor- lehtedes µg	Eriradio- aktiiv- sus imp/ min/mg	Sisaldus Ig toor- lehtedes mg	Eriradio- aktiiv- sus imp/ min/mg	Sisaldus Ig toor- lehtedes mg	Eriradio- aktiiv- sus imp/min/ mg	Sisaldus Ig toor- lehtedes mg	Eriradio- aktiivsus imp/min/mg
3	-	I4I2	I75o	23o	35I	77	3I54	I8	5333	565	427	459	294	59	I5oo
6	-	I765	2I9o	27o	87o	52	3253	45	7894	77o	542	653	342	88	I667
6	I	I68o	I32o	I44	I25o	53	4444	I8	I7966	4o2	Io92	558	543	48	25oo
6	4	I835	Io4I	I35	3o0o	4I	6429	22	I842I	52o	I687	43o	9o4	47	3I25
6	8	I434	I72	I24	3o0o	4o	8355	2o	4I5I5	4I8	2437	432	I644	88	22oo
6	I2	I4Io	I7I	I4I	62o8	59	78oo	36	25I6I	547	Io22	4I2	I429	47	I875
6	I7	I569	I68	I7o	5833	I29	3o9I	I8	9o0o	453	143	47I	862	92	436
24	-	I765	IoI6	I2o	I5oo	49	36I4	I7	I4584	77I	955	6I2	48I	94	2o63
24	3	I53o	25o	I4I	3366	78	5263	I5	64oo	43o	I5o7	47o	875	59	28oo
24	6	I34I	Io6	I2o	625o	4o	6267	36	3o0oo	42o	2296	4o6	I464	77	I923
48	-	I7o5	75o	Io7	2777	69	4273	I7	I58oo	588	Io3o	549	746	93	2562
I2o	-	I659	528	I18	385o	42	5882	27	I7893	475	2I23	63o	Io56	97	3652

J ä r e l d u s e d

1. Okasõunataimed assimileerivad intensiivsel fotosünteesil 5 - 6 tunniga $C^{14}O_2$ peaaegu täielikult, kusjuures glükoos omandab sama ajaga lehtedes maksimaalse eriradioaktiivsuse. Hiljem väheneb glükoosi eriradioaktiivsus pidevalt, moodustades 17 ööpäeva möödumisel umbes 7 - 8 % algaktiivsusest.

2. Vabad aminohapped leutsiin, valiin, proliin, glutamiinhape ja asparagiinhape omandavad okasõunalehtedes maksimaalse C^{14} eriradioaktiivsuse 8 - 9 ööpäeva möödumisel pärast $C^{14}O_2$ assimileerimist fotosünteesil, lüsiin 4-5 ööpäeva möödumisel.

3. Vabadest aminohapetest omandab suurima C^{14} eriradioaktiivsuse proliin.

K i r j a n d u s

1. Незговорова Л.А. ДАН.ССР, 79, 537 (1951).
2. Незговорова Л.А. ДАН.ССР, 85, 6, 1387 (1952).
3. Кузин А.М., Меренова В.И., ДАН.ССР 85, 393 (1952).
4. Курсанов А.Л., Вестн.АН СССР, № 12 (1953).
5. Курсанов А.Л., Туркина М.В., ДАН ССР, 95,885 (1954).
6. Ничипорович А.А., Тр.Ин-та физиол.раст.им.К.А.Тимирязева, т.8, вып.1, Изд.АН СССР (1953) с.3-41.
7. Заленский О.В., Семихатова О.А., Вознесенский Е.Л., Методы применения радиоактивного углерода C^{14} для изучения фотосинтеза, Изд.АН СССР, (1955).
8. Кузин А.М., меренова В.И., Биохимия, т.19, вып.5, с.616-618, вып.6, с.698-701 (1954).

9. Кузин А.М., Токарская (Меденцова) В.И., Биохимия т.21, вып.1, с.80-86 (1959) .
10. Рабинович Е., фотосинтез, т.3, Изд.ИЛ, с.505-513(1959)
11. Рачинский В.В., Изв.Тимирязевск.сель-хоз.Акад.вып.3, с 161-174 (1954).
12. Рачинский В.В., Денчева А.В., Изв.Тимирязевск.с-х. Акад. вып.5, с.12-20 (1966)
13. Андреева Т.Ф., Нальборчик Э.Я., Тихомиров М.В., Проблемы фотосинтеза (сборник), с.272-280, 307-313. Изд. АН СССР, М.(1959).
14. Осипова О.П., Николаева М.К., Физиол.растений т.П, вып.2, с.210-215 (1964).
15. Методика количественной бумажной хроматографии сахаров, орг.кислот и аминокислот у растений (сборник), с.71-79, Изд.АН СССР, м.(1962).
16. Специальный практикум по биохимии и физиологии растений, с.31-43 Изд.Томского ун-та (1966).
17. Бояркин А.Н., Дмитриева М.И., Физиол.растения, т.5, вып.1, с.86-87, вып.4, с.386-390 (1958).
18. Aronoff, S., Benson, A.A., Hassid, W.Z., Calvin, M., Science, 105, 664 (1947).
19. Calvin, M., Benson, A.A., Science, 107, 476 (1948).
20. Udenfriend, S., Gibbs, M., Science, 110, 708 (1949).
21. Leete, E., Marion, L., Spencer, D., Canad. J. Chem., 32, 1116 (1954); Nature (London) 174, 650 (1954).
22. Mothes, K., Schütte, H.R., Angew. Chem., 75, 265, 357 (1963)
23. Sullivan, G., Gibson, M.R., J. Pharmac. Sci., 53, 9, 1058 - 1063 (1964)
24. Hrabetova, E., Турь, J., J. Chromatogr., 3, 199 (1960).

ОБ АССИМИЛЯЦИИ РАДИОАКТИВНОГО УГЛЕРОДА В ЛИСТЯХ ДУРМАНА ПРИ ФОТОСИНТЕЗЕ

В.Коппель

Резюме

Исследовалась интенсивность ассимиляции радиоактивного углерода с¹⁴ в листьях дурмана, у которого были предва-

рительно удалены цветы. Изучалась интенсивность ассимиляции C^{14} в гликозе и в свободных аминокислотах. Растения держались в атмосфере $C^{14}O_2$ в течение от 3 до 120 часов и потом нормально росли в течение от 1 суток до 17 суток. Опыты проводились в полевых условиях. Листья дурмана фиксировали, экстрагировали при помощи 80% спирта и углеводы и аминокислоты выделяли при помощи катионитного столба. Гликоза и свободные аминокислоты выделялись методом хроматографии на бумаге.

Количественное определение проводили фотоэлектроколориметрически в элюатах хроматограмм и удельная радиоактивность определялось в сухих остатках после выпаривания элюатов.

Было установлено, что $C^{14}O_2$ ассимилируется полностью при интенсивном фотосинтезе уже за 5-6 часов и гликоза приобретала за это время максимальную удельную радиоактивность. Удельная радиоактивность гликозы постепенно уменьшалась и через 17 суток оставляла только 7-8% от максимальной радиоактивности. Свободные аминокислоты лейцин, валин, пролин, глутаминовая кислота и аспарагиновая кислота приобретали максимальную радиоактивность в листьях за 8-9 суток, а лизин за 4-5 суток после ассимиляции $C^{14}O_2$. Из свободных аминокислот максимальную удельную радиоактивность приобретал пролин.

TROPAANALKALOIDIDE MOODUSTUMISEST JUURTEST ERALDATUD OKASÕUNAS

V. Koppel

Tropaanalkaloidide moodustumist maavitsaliste (Solanaceae) sugukonda kuuluvates taimedes on viimaste aastakümnete kestel võrdlemisi palju uuritud. Katsete tulemused on näidanud, et enamikul selle sugukonna taimedel sünteesitakse tropaanalkaloidid põhiliselt juurtes, ainult vähesel hulgal alkaloidide võib moodustuda ka noorte taimede maapealsetes osades ja valminud viljades (1, 5, 6, 7, 8, 9, 10). Erandiks on osutunud tropaanalkaloidi skopolamiini moodustumine tropaanalkaloidist hüostüamiinist oksüdatsioonil. See biokeemiline reaktsioon toimub peamiselt taimede maapealsetes organeis, kuna juured on selleks võimalised ainult üksikute taimeliikide puhul (11, 12). Pookekatsed mõningate okasõunte perekonda kuuluvate taimedega (*Datura tatula*, *Datura innoxia*) on näidanud, et hüostüamiin võib moodustuda ka nende taimede maapealses osas ja skopolamiin juurtes (13). On leitud, et okasõuna liikides (näit. *Datura innoxia* Mill.) tekib hüostüamiin hilisemal vegetatsiooniperioodil põhiliselt juurtes ja skopolamiin lehtedes. Noortel taimedel aga moodustatakse tunduv osa hüostüamiinist lehtedes ja skopolamiinist juurtes (14). Viimastel aastatel tehti katseid, kus poogiti tomatitaimi harilikku okasõuna (*Datura stramonium* var. *stramon*) alusele. Saadud tomativiljad olid suuruse ja saagikuse poolest suuremad kui pookimata taimedel ning ei sisaldanud üldse tropaanalkaloidide (15). Analoogiliste katsete puhul

indiaani okasõuna (*Datura innoxia*) pookealusega sisaldasid poogitud tomati lehed ja varred alkaloide skopolamiini ja hüostüamiini (2). Seega peaksid indiaani okasõunas alkaloidid tekkima põhiliselt juurtes. Katsed on näidanud, et hariliku okasõuna ja karumustika taimede vartelt lõigatud lehed on võimelised moodustama radioaktiivset hüostüamiini ja skopolamiini, kui neid hoida 4 päeva radioaktiivset süsinikku sisaldava putrestsiindihüdrokloriidi vesilahuses (16).

Nagu eeltoodud andmetest nähtub, pole küsimus tropaanalkaloidide moodustumise kohta taimede eri organeis veel lõplikult lahendatud. Käesoleva töö ülesandeks oli selgitada, kas juurtest isoleeritud hariliku okasõuna taimed on võimelised alkaloide moodustama ning millisel hulgal tekib nende lehtedes tropaanalkaloide hüostüamiini ja skopolamiini.

Katse materjal ja katsete metoodika

Katseteks kasutati hariliku okasõuna (*Datura stramonium* var. *stramonium* L.) taimi õitseperioodi algul 8. vegetatsiooninädalal. Katsetaimede valikul arvestati ühtlast arengufaasi ja suurust. Osal taimedest lõigati ära alumine varreosa 5 cm kauguselt juurestiku algusest ning taimed asetati toitelahusesse, mis koosnes 0,16%-lisest väetis-segu B vesilahusest (sisaldas N, P, K sooli, mikroelementidest B, Mn, Co, S, Mo, Cu, Mg ja Fe).

Toitelahuse anumad koos taimedega paigutati orgaanilisest klaasist hermeetiliselt suletavasse boksi (ruumala 36 liitrit). Katsetaimede lehtede välispindala oli 17,9dm². Toitelahuse pind kaeti sulatatud vaseliiniga, et vältida süsinikdioksiidi adsorbeerumist vedelikus. Boksis oli ventilaator õhu segamiseks ning termomeeter. Seejärel juhiti boksi radioaktiivset süsinikdioksiidi üldaktiivsusega 100 mikroküriid. Viimase saamiseks kasutati radioaktiivset sü-

sinikku (C^{14}) sisaldavat baariumkarbonaati, millele toimiti piimhappega. Katsed tehti päikesepaistelise ilmaga väljas, kusjuures taimede valgustustugevus oli 20 000 - 30 000 luksi ning välistemperatuur + 18° C. Taimed eksponeeriti boksis 9 tundi, CO_2 kontsentratsioon hoiti 0,3 - 0,4 % (mahu järgi) piires, juhtides vajaduse korral juurde mitteradioaktiivset CO_2 . Boksi välisseinte jahutamisega hoiti selles temperatuur alla + 25° C.

Pärast boksist eemaldamist lasti taimedel kasvada vabas õhus toitelahuses 6 ööpäeva. Seejärel eraldati lehed, kuivatati termostaadis temperatuuril +40° C ning peenestati. Saadud õhkkuiivas lehtede pulbris (15 g) eraldati alkaloidide summa N.U. Libisovi meetodil (3). Saadud puhtad alkaloidid lahustati 2 ml-s kloroformi-bensooli segus (1:1). Osa alkaloidide lahusest kasutati paberelektroforeetiliselt määramiseks, teisest osast eraldati alkaloidide summa ränivolfraamadina.

Paberelektroforeetiliselt määramiseks kasutati kromatograafilist paberit M (Leningradi Volodarski-nim. Paberivabrik). Alkaloidid eraldati boraatpuhvri lahusega niisutatud paberil 600-voldise pinge juures 50 minuti kestel (paberi laius 30 cm). Elektroforegrammid kuivatati toatemperatuuril ja ilmutati Dragendorffi reaktiiviga Traberti modifikatsioonil (17). Ilmutatud elektroforegrammidest läigati välja alkaloidide atropiini (dl-hüostüamiini) ja skopolamiini laigud ning määrati nende radioaktiivsus väikese fooniga loendusseadeldisel UMF-2 (valmistatud NSV Liidu Tervishoiuministeeriumi Biofüüsika Instituudi Eksperimentaaltöökojas). Loendusseadeldisel oli kaks loendajat SBT-13 vastastikku asetsevate aknakestega, millede vahele asetati elektroforegrammi laik 2 mm kaugusele kummastki aknakesest. Seadeldis registreeris elektroforegrammi mõlema külje radioaktiivsuse. Seejärel elueeriti elektroforegrammidest alkaloidide atropiini ja skopolamiini joodvismutkompleksi laigud Traberti meetodil (17) äädikhappeanhüdriidiga ning määrati nende kvantitatiivne sisaldus

spektrofotomeetriliselt võrdlusele standardlahuste elektroforegrammide eluaatidega.

Teisele osale N.I. Libisovi meetodil taimematerjalist eraldatud alkaloidide kloroformi-bensoolilahusele lisati 1%-list pikriinhappelahust kloroformis ning lasti kristalliseeruda alkaloidide pikraadid. Saadud kristallid pesti kloroformiga ning lahustati atsetoonis. Lisati 1%-list ränivolfraamhappelahust atsetoonis kuni alkaloidide ränivolfraamatide täieliku sadestumiseni. Sadet pesti 10 korda 1 ml atsetooniga ja kuivatati temperatuuril $+50^{\circ}\text{C}$. Alkaloidide ränivolfraamadid peenestati ja määrati täpse kaalutise radioaktiivsus eeltoodud loendusseadeldisel UMP-2.

Paralleelselt katsetega juurtest isoleeritud harilikku okasõuna taimedega tehti võrdluskatsed juurtest isoleerimata sama arengufaasi ja suurusega taimedega. Võrdluskatse taimed kasvasid põllul normaalses tingimustes. Neil suleti oksad koos lehtedega hermeetiliselt sama suurusega orgaanilisest klaasist boksi, kusjuures taim jäi juurtega edasi peenrale. Boksis olevate taimlehtede pindala, kasutatud C^{14} radioaktiivsus, CO_2 kontsentratsioon, eksponeerimisaeg ja muud katsetingimused olid analoogilised põhikatsega. Pärast võrdluskatse taimede eksponeerimist radioaktiivse C^{14}O_2 atmosfääris lasti neil kasvada peenardel normaalingimustes 6 ööpäeva. Seejärel eraldati lehed, kuivatati ning määrati alkaloididesisaldus ja radioaktiivsus analoogiliselt põhikatsega.

Katsete teostamisel püüti okasõunataimi hoida fotosünteesi intensiivsuse suhtes võimalikult ühesugustes tingimustes. Uurimused on näidanud, et taimedelt eraldatud lehtedes ei teki olulisi muutusi fotosünteesi intensiivsuses ja hingamises, kui lehtede veerežiim hoitakse normaalsel tasemel ja õhulõhed on avatud (4).

Alkaloididesisaldus ja eriradioaktiivsus juurtest eraldamata ja juurtest eraldatud taimedes on toodud tabelis.

C^{14} -ga märgistatud tropaanalkaloidide-sisaldus ja eriradioaktiivsus
juurtest eraldatud ja eraldamata okasõuna lehtedes

	Juurtest eraldatud taimed					Juurtest eraldamata taimed				
	A t r o p i i n		Skopolamiin		Alkaloi- dide rän- nifol- ramasti- de eriak- tiivsus imp/min/mg	A t r o p i i n		Skopolamiin		Alkaloi- dide rän- nifol- ramasti- de eriak- tiivsus imp/min/mg
	Sisaldus kuivatat. lehtedes %	Eriradio- aktiivsus imp/min/mg	Sisaldus kuivatat. lehtedes %	Eriradio- aktiivsus imp/min/mg		Sisaldus kuivata- tud leh- tedes %	Eriradio- aktiivsus imp/min/mg	Sisaldus kuivatat. lehtedes %	Erira- dioak- tiivsus imp/min/mg	
	0,024	25,8	0,118	12,2	22,4	0,074	51,0	0,132	24,8	35,5
	0,028	26,6	0,107	12,8	23,6	0,087	54,2	0,102	25,5	38,6
	0,021	30,5	0,098	14,2	26,2	0,076	62,4	0,125	28,2	42,5
	0,024	32,0	0,102	15,1	27,8	0,101	69,6	0,103	30,0	46,7
	0,025	36,7	0,104	17,0	33,0	0,078	80,0	0,114	36,2	50,1
Kesk- mine	0,024	30,3	0,106	14,3	26,6	0,083	63,4	0,115	28,9	42,7

Katsetulemustest selgub, et juurtest eraldatud hariliku okasõuna taimed on võimalised moodustama tropaanalkaloide. Võttes aluseks alkaloididesse liitunud radioaktiivset süsinikku, moodustab juurtest eraldatud taimede lehtede alkaloidide ränivolfraamatide eriaktiivsus keskmiselt 62,3 % juurtest eraldamata taimede alkaloidide ränivolfraamatide eriradioaktiivsusest. Juurtest eraldatud taimede lehtedes vähenes atropinisisaldus peaaegu 3,5 korda, moodustades 28,9 % juurtest eraldamata taimede keskmisest atropinisisaldusest. Seejuures aga olid juurtest eraldatud taimed võimalised atropiini moodustama, kusjuures viimase C^{14} eriradioaktiivsus oli üle kahe korra madalam võrreldes juurtest eraldamata taimede atropiini eriradioaktiivsusega, moodustades sellest keskmiselt 47,8 %.

Juurtest eraldatud okasõunataimede lehtede skopolamiinisisaldus langes võrdlemisi vähe, moodustades keskmiselt 92,1 % juurtest eraldamata taimede lehtede skopolamiinisisaldusest. Juurtest eraldatud taimede lehtede skopolamiini C^{14} eriradioaktiivsus vähenes peaaegu 2 korda, moodustades 49,5 % juurtest eraldamata taimede lehtede skopolamiini eriradioaktiivsusest. Katsetulemused näitasid, et skopolamiin moodustati põhiliselt hariliku okasõuna maapealseis organoids.

J ä r e l d u s e d

1. Juurtest eraldatud hariliku okasõuna taimede maapealses osas moodustatakse õitseperioodi algul keskmiselt 62,3 % alkaloidide summast, võttes aluseks alkaloidide ränivolfraamatide eriradioaktiivsuse pärast taimede eksponeerimist $C^{14}O_2$ atmosfääris.

2. Dl-hüostsüamiin (atropiin) sünteesitakse õitseperioodi algul põhiliselt okasõunataimede juurtes ning vähestes hulkades taimede maapealseis osades.

3. Keskmiselt 92,1 % hariliku okasõuna lehtedes sisalduvast skopolamiinist moodustatakse täiskasvanud tailmede maapealseis organeis.

K i r j a n d u s

1. Краевой С.Я., Нечаев И. Докл. АН СССР, 31,69(1941).
2. Бурдыкина-Шехтер Э.А. Раст. ресурсы, т. 2, вып. I, с. 56 (1966).
3. Либизов Н.И. Труды Всесоюзн. научно-иссл. ин-та лекарств. раст. вып. 10(1950).
4. Вознесенский В.Л., Заленский О.В., Семихатова О.А. Методы исследования фотосинтеза и дыхания растений, с. 47-48, Изд. "Наука", М.(1965).
5. Mothes, K., Hiecke, E. *Naturwissenschaften*, 31, 17-22 (1943).
6. Mothes, K., Romeike, A.: in W. Ruhland "Handbuch der Pflanzenphysiologie", Bd. 8, S. 1008, Springer Berlin (1958).
7. Romeike, A. *Die Pharmazie*, 8, 668, 729 (1953).
8. Shibata, S. *Planta medica*, 4, 74 (1956).
9. Jindra, A., Leblova, S., Sipal, Z., Cihak, A. *Planta medica*, 8, 44 (1960).
10. Romeike, A. *Flora*, 148, 306 (1959).
11. Romeike, A. *Naturwissenschaften*, 46, 492 (1959).
12. Romeike, A. *Planta medica*, 8, 491 (1960).
13. Evans, W.C., Partridge, M.W. *J. Pharm. Pharmacol.*, 5, 293, 772 (1953).

14. Steinegger, E., Gessler, F. Pharm. Acta Helvetiae, 30, 115-123 (1955).
15. Auer, E., Liebert, H., Schmid, L. Ernährungsforsch. (Berlin), 12, 579-584 (1967).
16. Liebisch, H.W., Shalaby, A.F., Schütte, H.R. Naturwissenschaften, 53, 434 (1966).
17. Trabert, H. Naturwissenschaften, 43, 351 (1956).

ОБ ОБРАЗОВАНИИ ТРОПАНОВЫХ АЛКАЛОИДОВ
В ДУРМАНЕ, ОТДЕЛЕННОМ ОТ КОРНЕЙ

В.Коппель

Резюме

Растения дурмана обыкновенного *Datura stramonium* var. *stramonium* L. были отделены от корней в начале фазы цветения и держались 6 дней в питательном растворе и в атмосфере $C^{14}O_2$. Спустя 6 дней выделили из листьев количественно сумму алкалоидов в виде солей кремневоольфрамовой кислоты и определили содержание гиосциаммина и скополамина методом электрофореза на бумаге, а также удельную радиоактивность C^{14} . Параллельно был поставлен опыт с растениями дурмана без удаления корней.

Было обнаружено, что в начале фазы цветения образуется в среднем 62,3% от суммы алкалоидов в наземных частях дурмана. Гиосциамин образуется в начале фазы цветения главным образом в корнях, а скополамин - в наземных частях дурмана.

HIIREKÕRVA CAPSELLA BURSA-PASTORIS (L.) MED.
TOIMEAINE MÄÄRAMINE

S. Jürisson

Hiirekõrva ürdist valmistatud tõmmiseid on kasutatud verdsulgeva ja emakakontraktsiooni esilekutsuva vahendina juba rahvameditsiinis. Seni pole õnnestunud määrata hiirekõrva kõiki bioloogiliselt aktiivseid toimeaineid. H. Thaa (1953) ja P. Hauschildi (1958) andmetel on hiirekõrva ürdis peamiseks toimeaineks koliin ning teised biogeensed amiinid. Bombeloni (1888) andmetel on hiirekõrva toimeaineks alkaloid bursiin e. bursahape, kuid ta ei esitanud selle alkaloidi omaduste ja koosseisu kohta mingeid andmeid. Ka A.P. Orekhov (1932) on maininud hiirekõrvas võimaliku alkaloidi esinemist, mida temal aga ei õnnestunud isoleerida, kuna see ei läinud üle orgaanilisse lahustisse.

Töö eesmärgiks oli isoleerida hiirekõrvast toimeaine ja määrata selle bioloogiline aktiivsus emaka suhtes.

M e t o o d i k a

Hiirekõrva koguti 1966. ja 1967. aasta mai- ja juunikuus Tartu ümbrusest. Toimeainete identifitseerimiseks kasutati füüsikalisi-keemilisi meetodeid ja paberkromatograafiat. Koliini kvantitatiivset sisaldust määrati kaalanalüütiliselt erinevates taimeosades kõikidel vegetatsiooniperioodidel.

Elkatsetena kasutati võimalike alkaloidide isoleerimiseks meie poolt modifitseeritud Stas-Otto meetodit (Autenrieth, 1943). Ekstraheeriti orgaaniliste lahustite kloroformi, atsetooni, diklooretaani ja alkoholiga. Katsed viidi läbi toa- ja 50 - 60°-sel temperatuuril erinevate pH-de juures. Keskkonna pH-d muudeti leeliste (NaOH , NH_4OH , $\text{Ca}(\text{OH})_2$) ja sidrunhappega (Rosenthaler, 1928).

Meil õnnestus eraldada toimeaine järgmise meetodi abil: kuivatatud droog peenestati, leelistati nõrgalt (pH 7,5) kaltsiumhüdrosiidiga ning ekstraheeriti 70%se alkoholiga kolm korda. Saadud tõmmised ühendati, filtreeriti, koondati vaakumis ja vabastati ballastainetest alumiiniumoksiidi abil; peale selle koondati veel kuni kirme tekkiniseni vedeliku pinnal. Saadud koondatud ekstrakti kasutati ka kromatografeerimisel. Pärast jahtumist siirupjas vedelikus tekkinud kristallid koguti klaasvaakuumfiltrile, millele oli asetatud filterpaber. Kristallid puhastati siirupjast vedelikust algul filterpaberiga, siis loputati atsetooniga ja kuivatati.

Koliini isoleerimist ja kvantitatiivse sisalduse määramist teostati I. Bayeri, K. Katona ja L. Tardose (1959) poolt kirjeldatud meetodil. Koliin ekstraheeriti droogist 50%-lise etüülalkooliga, puhastati ja sadestati Reinecke soolaga ning sade kaaluti.

Kromatograafilisi uurimisi viidi läbi n-butanool-äädikhape-vesi süsteemis (4:1:5) ning ilmutati Dragendorffi reaktiiviga ja joodi aurudega (I.M. Hais, K. Macek, 1962; V.A. Sa-fin, 1966).

Ainete samastamiseks kasutati ofitsiaalset koliinhüdrokloriidi ja histamiinhüdrokloriidi.

Ekstraheerimisel saadud kristallilise aine bioloogilist aktiivsust määrati küüliku isoleeritud emakal.

Katsetulemused

Katsetulemustest selgus, et hiirekõrva kogu droogis oli koliinisisaldus kõige suurem I vegetatsiooniperioodil (enne õite puhkemist); II vegetatsiooniperioodil (õitsemisajal) see tunduvalt vähenes; III vegetatsiooniperioodil (pärast õitsemist) oli aga kõige väiksem. Kõikidel vegetatsiooniperioodidel oli koliinisisaldus suurem lehtedes ja õites enne õitsemist ning väiksem vartes ja juurtes. Nii oli koliinisisaldus enne õitsemist ürdis $0,23 \pm 0,006\%$, lehtedes ja õites $0,25 \pm 0,01\%$ ning vartes ja juurtes $0,20 \pm 0,012\%$; pärast õitsemist ürdis $0,14 \pm 0,004\%$, viljades $0,13 \pm 0,006\%$ ning vartes ja juurtes $0,09 \pm 0,006\%$ (vt. tabel 1).

Tabel 1

Koliinisisaldus (%) hiirekõrvas *Capsella bursa-pastoris* (L.) Med. erinevates taimeosades ja erinevatel vegetatsiooniperioodidel.

I			II			III		
Kogu droog	Lehed, õied	Varred, juured	Kogu droog	Lehed, õied	Varred, juured	Kogu droog	Viljad	Varred, juured
\bar{x} 0,23	0,25	0,20	0,19	0,23	0,17	0,14	0,13	0,09
S 0,016	0,024	0,031	0,024	0,016	0,018	0,012	0,018	0,016
Sx 0,006	0,01	0,012	0,01	0,006	0,006	0,004	0,006	0,006

Ekstraheerimisel metüül-, propüül- ja etüülalkoholiga on koliinisisaldus enam-vähem ühesugune, kuid viiga on suurem ekstraheerimisel propüülalkoholiga võrreldes ekstraheerimisel metüül- ja etüülalkoholiga saadud veaga (vt. tabel 2).

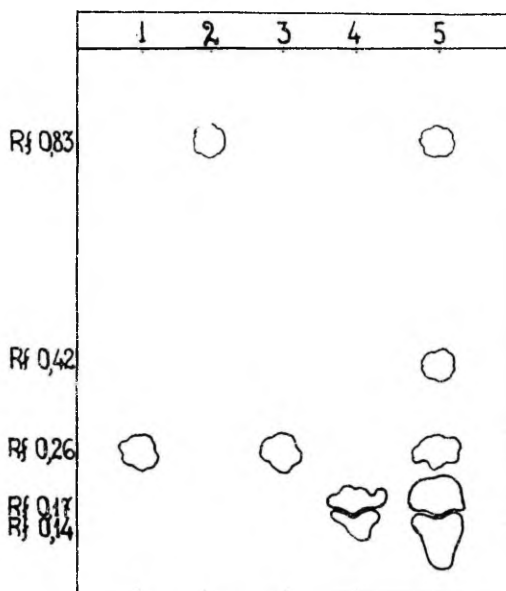
T a b e l 2

Koliinisisaldus (%) hiirekõrva kogu droogis õitsemisajal mitmesuguste lahustitega ekstraheerimisel.

	Etüülalkohol 50 %	Metüülalkohol 50 %	Propüülalkohol 50 %
\bar{x}	0,20	0,20	0,22
S	0,022	0,033	0,05
Sx	0,008	0,012	0,02

Paberchromatograafiline uurimine näitas, et hiirekõrvast isoleeritud koliin ja hiirekõrva koondatud koliini sisaldav ekstrakt andsid chromatogrammil ofitsiaalse koliiniga võrdsel kõrgusel paiknevad laigud (R_f 0,26). Samal viisil tõestati histamiini esinemine hiirekõrva koondatud ekstraktis (R_f 0,83). Peale nimetatute eraldus hiirekõrva koondatud ekstraktist chromatografeerimisel veel tundmatu laik (R_f 0,42) ja kaks teineteisele lähedal asuvat laiku (R_f 0,14 ja 0,17), viimaste R_f -d ühtisid meie poolt isoleeritud bioloogiliselt aktiivse aine kristallide R_f -dega. Chromatogrammi järgi võib otsustada, et isoleeritud kristallid koosnesid kahest erinevast ainest (vt. chromatogramm), mida meil ei õnnestunud lahutada.

Meie poolt isoleeritud kristallide füüsikalise-keemilise uurimine näitas, et nendel on alkaloididele iseloomulikud omadused. Saadud kristallid olid nõeljad ja ruudukujulised, kusjuures viimaseid esines rohkem. Lahustusi hästi vees ja alkoholis, kuid olid lahustumatud eetris ja kloroformis. Sulamistemperatuur ca 170° , maitse soolakas, vesilahuse reaktsioon leeliseline, berliinisinise reaktsioon positiivne. Alkaloidide sadestamisreaktiividega andsid positiivseid tulemusi: Lugoli lahus ++, tanniinilahus ++, ränivoolframhappelahus +, fosforvoolframhappelahus +++, pikriinhappelahus +++, fosformolübdeenhappelahus ---, Dragendorffi reaktiiv +++.

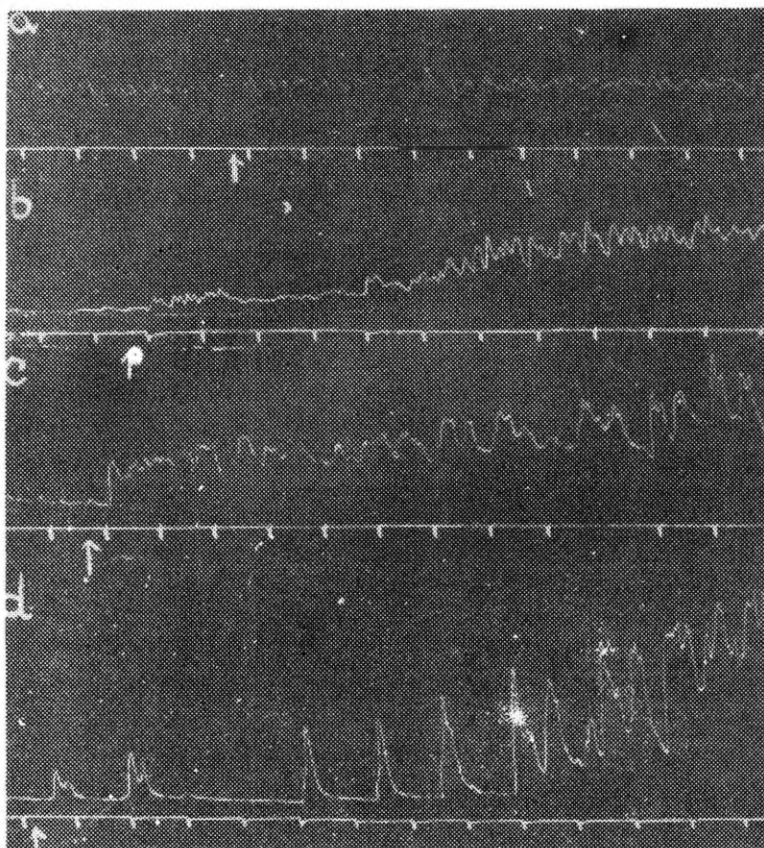


Kromatogramm: Hiirekõrva koondatud ekstrakti kromatograafiline analüüs.

1. Koliinhüdrokloriidilahus.
2. Histamiinhüdrokloriidilahus.
3. Hiirekõrvast isoleeritud koliinreinekaadi lahus.
4. Hiirekõrvast isoleeritud alkaloiditaoliste ainete lahus.
5. Hiirekõrva koondatud ekstrakt.

Katsetulemused eraldatud alkaloiditaolise aine toime määramiseks küüliku isoleeritud emakasarve suhtes näitasid, et emakasarve toonus tõusis sõltuvalt kontsentratsioonist (vt. kromogramm). Kontsentratsioonis $1 \cdot 10^{-11}$ (a) emakatoonus ei tõusnud, kuid kontraktsioonid mõnevõrra suurenesid. Kontsentratsioonis $1 \cdot 10^{-10}$ ja $1 \cdot 10^{-9}$ (b) emakakontraktsioonid tugevnesid ning vähesel määral tõusis toonus. Kontsentratsioonis $1 \cdot 10^{-8}$ (c) kontraktsioonid tugevnesid mõeldukalt ning tõusis toonus. Kontsentratsioonis $1 \cdot 10^{-6}$ (d)

kuni $1 \cdot 10^{-4}$ emakakontraktsioonid intensiivistusid tugevas-
ti ning toonus tõusis järsult. Kontsentratsioonis $2 \cdot 10^{-4}$
kadusid emakakontraktsioonid ja langes toonus.



Kümogramm Alkaloiditaoliste ainete toime
kõdliku isoleeritud emakasarve
motoorikasse kontsentratsioonides

- a) $1 \cdot 10^{-11}$; b) $1 \cdot 10^{-9}$; c) $1 \cdot 10^{-8}$;
d) $1 \cdot 10^{-6}$; aeg 60 sek.

J ä r e l d u s e d

1. Identifitseeriti hiirekõrva ekstraktis koliin ja histamiin.

2. Hiirekõrva ürdi koliinisisaldus oli kõige suurem esimesel vegetatsiooniperioodil (enne õitsemist $0,23 \pm 0,06 \%$), kõige väiksem kolmandal vegetatsiooniperioodil (pärast õitsemist $0,14 \pm 0,004$).

3. Koliini kvantitatiivsel määramisel võib ekstraheerimisvahendina kasutada peale etüülalkoholi ka metüül- ja propüülalkoholi.

4. Droogist isoleeriti kristallilisel kujul tundmatud ained, mis vastavate sadestamisreaktsioonide abil osutusid alkaloiditaolisteks.

5. Isoleeritud alkaloiditaolised ained olid bioloogiliselt aktiivsed küüliku isoleeritud emaka suhtes, tõstes emakasarve toonust ja suurendades kontraktsiooni kontsentratsioonis $1 \cdot 10^{-10}$ ja $1 \cdot 10^{-9}$.

K i r j a n d u s

Autenrieth, W. Die Auffindung der Gifte und stark wirkenden Arzneistoffe, 1943, S. 74-78, 330-334.

Bayer, I., Katona, K., Tardos, L. Acta pharm. hung., 1959, v. 28, p. 164.

Bombelon, A. Tsit.: Лейбовича Я.А. Врач. дело, 1923, № 24-26, с. 719-723.

Hauschild, F. Pharmakologie und Grundlagen der Toxikologie 1958, S. 609.

Rosenthaler, L. Grundzüge der chemischen Pflanzenuntersuchung. 1928, S. 35-43.

Thaa, H. Die Pharmazie, 1953, S. 265-266.

Wasicky, R. Physiopharmakognosie, 1932, S. 738-739.

Орехов А.П. Химия алкалоидов растений СССР, 1965, с.9,17.

Сафин В.А. Изучение сырья, процесса экстракции биологически активных веществ и некоторых суммарных препаратов крапивы двудомой. Диссертация, 1966. Пятигорск.

Хайс И.М., Машек К. Хроматография на бумаге, 1962, с.529-530.

УСТАНОВЛЕНИЕ ДЕЙСТВУЮЩИХ ВЕЩЕСТВ ПАСТУШЬЕЙ

СУМКИ *CAPSELLA BURSA-PASTORIS* (L.) MED.

С. Юриссон

Резюме

Изучали содержание действующих веществ пастушьей сумки в разных периодах вегетации и в различных частях растений. Холин экстрагировали 50% этиловым спиртом, очищали и осаждали солью Рейнке. Выяснилось, что в траве пастушьей сумки содержание холина больше всего в первом вегетационном периоде до распускания цветов - (в траве - $0,23 \pm 0,006\%$; в листьях - $0,25 \pm 0,01\%$; в стеблях и корнях - $0,21 \pm 0,012\%$), а после отцветания (в траве - $0,14 \pm 0,004\%$; в плодах - $0,13 \pm 0,006\%$; в стеблях и корнях - $0,09 \pm 0,006\%$).

В качестве предварительных опытов с целью изолирования возможных алкалоидов применяли методику Стас-Отто, модифицированную нами. Экстрагировали хлороформом, ацетоном, дихлорэтаном и этиловым спиртом при разных pH. Действующие вещества удалось изолировать следующим методом: измельченное высушенное сырье экстрагировали

этиловым спиртом при pH 7,5, полученный экстракт освободили от балластных веществ алюминия оксидом и концентрировали. После охлаждения жидкости выпадали кристаллы, которые высушивали при помощи фильтровальной бумаги и поло-скали ацетоном.

Для идентификации действующих веществ применяли физи-ко-химические и хроматографические исследования. Хромато-графию на бумаге проводили в системе н-бутанол-уксусная кислота-вода (4:1:5) и проявляли реактивом драгендорфа и парами йода. Для идентификации пятен применяли 0,1% рас-творы официального холина и гидрохлорида гистамина. Полу-ченный холин и холиносодержащий густой экстракт пастушьей сумки давали пятна, которые находились на одном уровне о пятном официального холина ($R_f = 0,26$). Подобным способом установили также и гистамин ($R_f = 0,83$). Кроме этих пятен выявились еще два друг другу близких пятна ($R_f = 0,14$ и $0,17$). По хроматограммам можно было установить, что полу-ченные кристаллы состоят из двух веществ ($R_f = 0,14$ и $0,17$), но различить их не удалось. Дальнейшее изучение по-казало, что эти вещества содержали азот (по реакции с бер-линской лазурью) и давали положительные реакции с алкалоид-ными реактивами. Биологическую активность полученных кри-сталлов изучали на изолированном роге матки кролика. Изоли-рованные кристаллы являлись биологически активными, вызы-вая в слабых концентрациях ($1 \cdot 10^{-10}$ и $1 \cdot 10^{-9}$) усиление сокращений и повышение тонуса рога матки кролика.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ ВОДНЫХ ИЗВЛЕЧЕНИЙ ПРИ ПОМОЩИ ТУРБО- ИЛИ ВИХРЕВОЙ ЭКСТРАКЦИИ

Сообщение I. Извлечения из листьев толокнянки (*Fol. Uvae ursi*) и корней первоцвета (*Rad. Primulae*)

Н.Вейдерпасс, Л.Кири, Э.Кейх, Р.Пяябо,
Э.Ребане и Э. Рууль

Одной из основных задач фармации является улучшение качества труда фармацевтов, а также расширение производства и ассортимента готовых лекарств. Большое внимание обращается на выработку новых лекарств и совершенствование и всестороннее улучшение производства уже существующих.

В настоящей работе рассматривается возможность приготовления настоев и отваров турбо- или вихревым методом. Внедрение этого метода в практику (М.Мелихар с соавторами (1)) дает возможность сократить время на экстрагирование, следовательно, и на экстенпоральное приготовление настоев и отваров. Несмотря на то, что часть настоев и отваров готовят в аптеках из стандартных экстрактов, довольно много извлечений получают экстрагированием растительного сырья.

Турбо-метод состоит в том, что мешалку погружают в смесь экстрагента и растительного сырья. Быстрое вращение мешалки вызывает интенсивное движение последних, увеличивает контакт между ними и этим способствует экстракции.

До сих пор особое внимание уделялось изучению вопросов турбо-экстрагирования с помощью алкоголя, следовательно, приготовлению настоек (2 - 6.). В Фармакопее ГДР 7 изд. имеется наряду с мацерацией и перколяцией в качестве официального метода для приготовления настоек турбо-экстракция (7, стр.182). О приготовлении водных турбо-извлечений литературных данных еще мало.

Быстрое вращение мешалки вызывает повышение температуры экстракционной жидкости (8). При повышенной температуре

многие вещества растворяются лучше и быстрее и этим улучшается процесс экстрагирования. Для поддержания нужной температуры разработаны специальные экстракционные аппараты (9).

При выполнении данной работы пользовались турбоустановкой размельчителя тканей, скорость вращения мешалки которой составляла 3000 об/мин и 5000 об/мин. Экстракцию проводили как при комнатной температуре, так и горячей водой. Измерялось повышение температуры, вызванное быстрым вращением смеси и снижение температуры, вызванное окружающей средой. Небольшое повышение температуры смеси ($3,2-3,5^{\circ}\text{C}$) (см. график I) при экстрагировании при комнатной температуре (20°C) практически не оказывает влияния на процесс экстрагирования (скорость вращения мешалки 5000 об/мин). Падение температуры горячей воды (от 100° до $44,3^{\circ}\text{C}$ в течение 5 минут и до $43,2^{\circ}\text{C}$ в течение 10 минут) довольно значительно и влияет на процесс экстрагирования отрицательно.

При внедрении в аптечную практику turbo-метода необходимо изолировать экстракционный сосуд от окружающей среды, чтобы препятствовать остыванию экстрагента.

В настоящей работе сравнивалось содержание действующих и экстрактивных веществ водных извлечений листьев толокнянки и корней первоцвета, полученных по прописям Фармакопей СССР IX изд. (10, стр.259) с содержанием тех же показателей в turbo-извлечениях.

Из новых изданий зарубежных Фармакопей для сравнительной оценки принята пропись Фармакопей ГДР 7 изд. (7, стр. 162), действующая с 1 января 1966 г.

Анализу подвергалось и употребляемое растительное сырье. В листьях толокнянки и водных извлечениях из них определяли содержание арбутина, дубильных и экстрактивных веществ (10, стр.208, 736; 11); в корнях первоцвета — содержание сапонинов и экстрактивных веществ (10, стр.736; 12).

Вытяжки из листьев толокнянки

Употреблявшиеся листья толокнянки были собраны летом 1967 г. в районе Пылва Эстонской ССР. Высушенное сырье намельчалось в мельнице эксцельсиор и просеивалось через фармакопейное сито № 6 (диам.отв.1 мм).

При анализе сырья выяснилось, что содержание арбутина в среднем 6,10%, дубильных веществ - 40,20% и экстрактивных веществ - 18,60%.

Вытяжки изготавливались весо-объемным способом в отношении 5,0/100,0.

Вытяжка I - приготовлялась по методу Фармакопеи СССР IX изд., отвар без 10-минутного последовательного настаивания при комнатной температуре, процеживали горячим.

Вытяжка I^a - приготовлялась по общей прописи Фармакопеи для отваров, процеживали после 10-минутного настаивания при комнатной температуре.

Вытяжка 2 - приготовлялась по прописи настоев Фармакопеи, после охлаждения вытяжка процеживалась.

Вытяжка 3 - приготовлялась по прописи Фармакопеи ГДР 7 изд.

Вытяжки 4 и 5 - приготовлялись 10-минутным турбо-экстрагированием: 4 - горячей водой, 5 - водой комнатной температуры.

Вытяжки 6 и 7 - приготовлялись 5-минутным турбо-экстрагированием: 6 - горячей водой, 7 - водой комнатной температуры.

1. Содержание арбутина в извлечениях

Данные об извлечении арбутина из сырья приведены в диаграмме 1. Наибольшее количество арбутина извлекалось при 10-минутном турбо-экстрагировании горячей водой /4/. При 10-минутном турбо-экстрагировании в комнатной температуре арбутина извлекалось немного больше /5/, чем по методу Фармакопей /1/. 5-минутное экстрагирование турбо-методом дало значительно меньшее содержание арбутина /6 и 7/, чем фармакопейный метод.

Обыкновенный фармакопейный отвар /1а/ и настой /2/ содержали меньше арбутина, но вытяжки, полученные по методу Фармакопей ГДР 7 изд./3/ содержали почти такое же количество арбутина, как и при турбо-извлечении (10 мин., горячей водой).

2. Содержание дубильных веществ в извлечениях

В диаграмме 2 показаны данные экстрагирования из сырья дубильных веществ. Как видно из диаграммы, самое высокое содержание дубильных веществ в фармакопейном отваре /1/. В остальных вытяжках содержание дубильных веществ меньше. Интересно отметить, что при 10-минутном турбо-экстрагировании водой комнатной температуры дубильные вещества экстрагировались приблизительно в таком же количестве /5/, как и при 5-минутном турбо-экстрагировании горячей водой /6/. Следовательно, при горячем извлекателе получено в течение 5 минут столько же дубильных веществ, сколько при применении холодной воды в течение 10 минут.

График 1

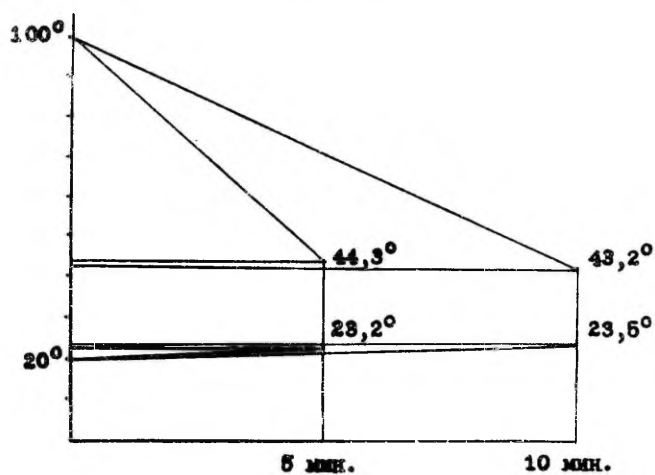


Диаграмма 1

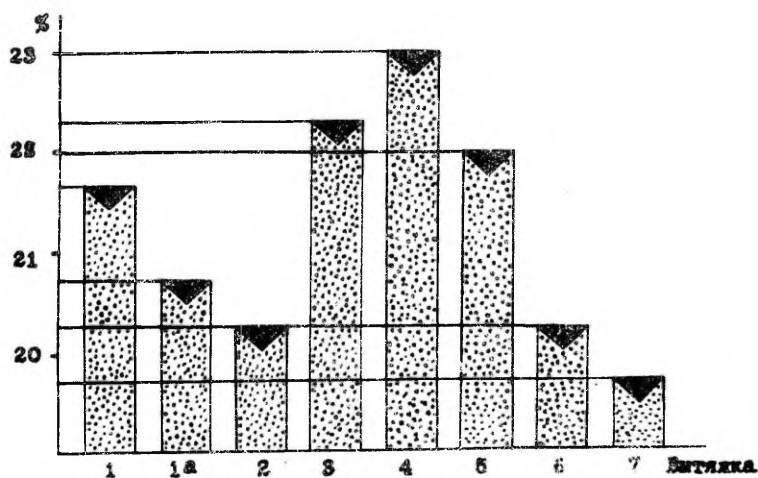


Диаграмма 2

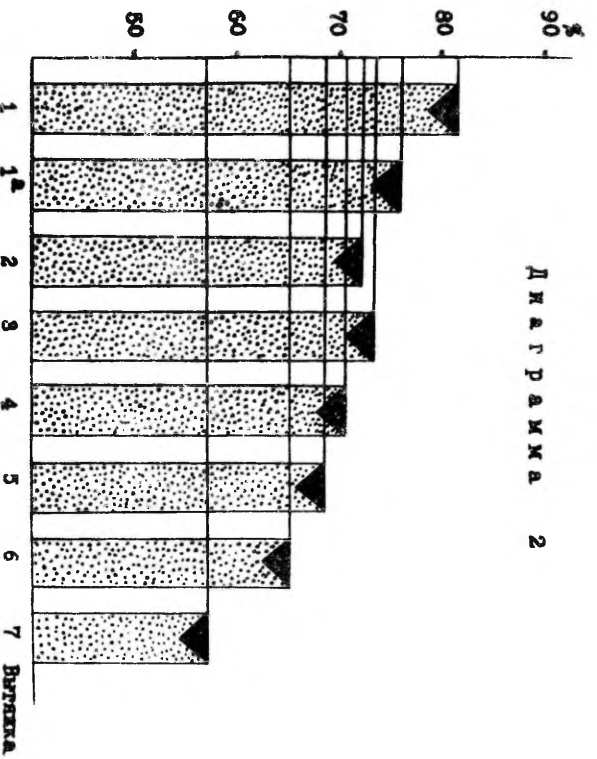
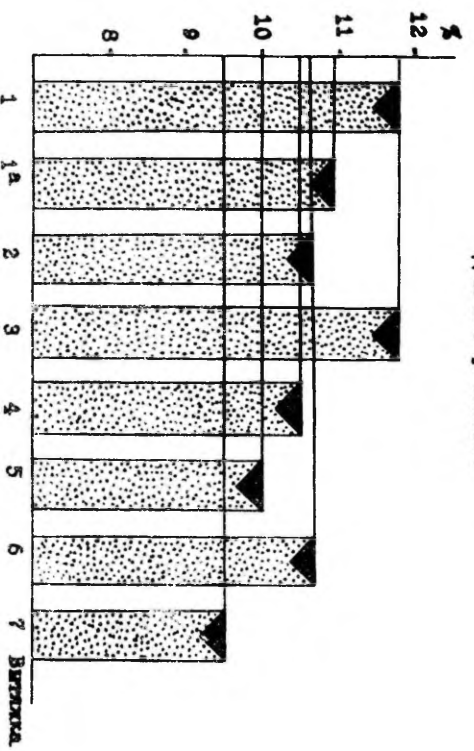


Диаграмма 3



3. Содержание экстрактивных веществ

Общее количество экстрактивных веществ в извлечениях определяли при помощи сухого остатка. Данные изложены в диаграмме 3, которая показывает, что фармакопейный отвар /1/ и извлечение, полученное по методу Фармакопеи ГДР 7 изд./3/ содержали наибольшее количество экстрактивных веществ. Наименьшее количество экстрактивных веществ экстрагируется холодной водой при турбо-экстракции как при 10-минутном /5/, так и при 5-минутном /7/ экстрагировании. В остальных вытяжках содержание экстрактивных веществ почти одинаковое.

При сравнении полученных данных о вытяжках из листьев толокнянки можно сделать следующие в ы в о д ы : замещение фармакопейных отваров турбо-извлечениями, полученными при 10-минутном экстрагировании горячей водой, дает возможность готовить вытяжки, сходные по содержанию, в три раза быстрее.

Вытяжки из корней первоцвета

Используемые корни первоцвета были собраны летом 1967 года в Валгаском районе. Высушенное сырье размельчали и просеивали через фармакопейное сито № 7 (диам.отв.2 мм).

При анализе сырья выяснилось, что оно содержит около 4,0% сапонинов и 44,0% экстрактивных веществ.

Извлечения готовили весо-объемным способом в отношении 3,0/100,0.

Вытяжки I и 2 - готовили настоями по методу Фармакопеи СССР IX изд.: I - из нерастертого сырья, 2 - из сырья, предварительно сильно растертого в ступке с малым количеством воды.

- Вытяжки 3 и 4 - готовили отварами по методу Фармакопей СССР: 3 - из нерастертого сырья, 4 - из предварительно растертого сырья.
- Вытяжка 5 - готовили по методу Фармакопей ГДР 7 изд.
- Вытяжки 6 и 7 - готовили турбо-методом при 5-минутном экстрагировании водой комнатной температуры: 6 - из нерастертого сырья, 7 - из предварительно растертого сырья.
- Вытяжки 8 и 9 - готовили турбо-методом при 5-минутном экстрагировании горячей водой: 8 - из нерастертого сырья; 9 - из предварительно растертого сырья.

Турбо-методом экстрагировали только 5 минут при вращении мешалки 3000 об/мин., так как вследствие содержания сапонинов вытяжки сильно пенились. Из-за образования пены контакт между сырьем и извлекателем уменьшался, что препятствовало экстракции.

Для уменьшения или предотвращения образования пены никакими приемами не пользовались, так как решение этого вопроса выходило за рамки настоящей работы.

Содержание сапонинов в извлечении устанавливали определением гемолитического индекса.

1. Данные о содержании сапонинов

Из результатов определения гемолитического индекса видно (график 2), что содержание сапонинов в турбо-извлечениях /6,7,8 и 9/ настолько мало, что провести сравнительные опыты не было возможности. Если вытяжки, полученные по методам Фармакопей (настои, отвары), в разбавлении 1:10 были пригодны для определения гемолитического индекса, то турбо-вытяжки в такой же концентрации гемолиза не вызывали (нуж-

ная концентрация 1:3 и 1:7).

Из графика 2 видно, что предварительное растирание сырья с извлекателем имеет большое значение как при изготовлении настоев, так и отваров. Наибольшее содержание сапонинов (ГИ=3000) имеется в отваре.

2. Данные о содержании сухого остатка

Данные, приведенные в диаграмме 4, показывают самое высокое содержание сухого остатка в настое /2/ и отваре /4/, приготовленных по методу Фармакопей СССР IX изд. из предварительно растертого в ступке с малым количеством воды сырья. Содержание сухого остатка в турбо-извлечениях очень низкое /6,7,8 и 9/.

При анализе вытяжек корней первоцвета полученные данные позволяют сделать следующий первоначальный вывод - замена отваров корней первоцвета с турбо-извлечениями невозможна, так как содержание сапонинов и экстрактивных веществ очень низкое.

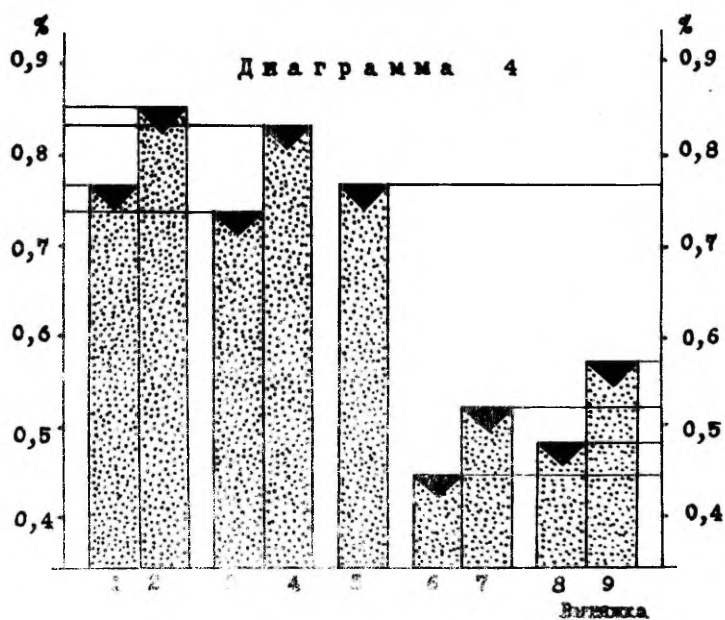
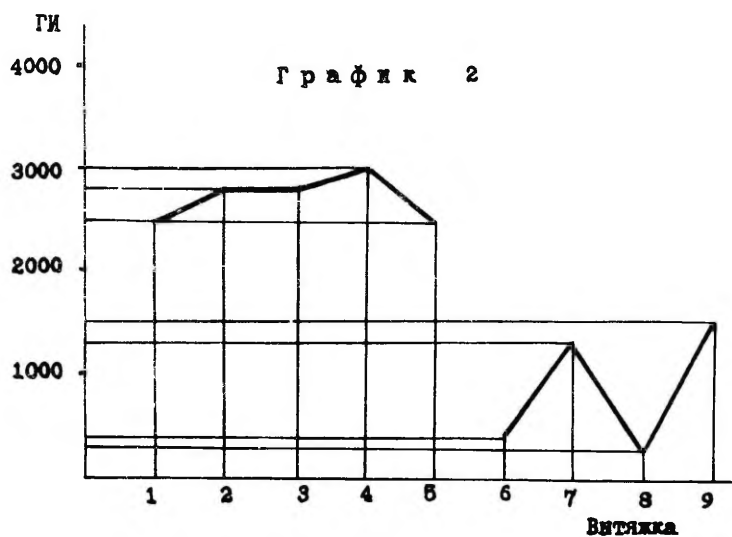
Для выяснения условий экстрагирования сапонин-содержащего сырья необходимо пользоваться экстракционной установкой дополнительной конструкции или добавлением пенозадерживающих веществ, что не входило в задачу настоящей работы.

Приготовление водных турбо-извлечений пока еще мало изучено и требует дальнейших всесторонних исследований.

Выводы

Замещение фармакопейных отваров из листьев толокнянки турбо-извлечениями, полученными при 10-минутном экстрагировании горячей водой, дает возможность готовить вытяжки, сходные по содержанию, в три раза быстрее.

Вытяжки из корней первоцвета, полученные турбо-методом, содержат очень мало как экстрактивных веществ, так и сапо-



нинов. Следовательно, экстрагирование сапонин-содержащего сырья турбо-методом требует дальнейшего подробного изучения.

Литература

1. Melichar, M., Rusek, V., Solisch, G. Českosl. Farmacie 1953, 338; 1954, 336; 1955, 512.
2. Громова Н.А. и Розенцвейг П.З. Медицинск.промышл.СССР, 1965, 2, 42.
3. Bogs, U., Damm, K. Pharmazie 1966, 393.
- 4.-5. Idem, Pharmaz. Praxis 1962, 1; 1966, 149.
6. Gstirner, F., Manns, G. (Pharmaz. Ztg. verein. Apotheker-Ztg. 1963, 440), ref.: Pharm. Zentralhalle Deutschland 1963, 798.
7. Ausgewählte Kapitel des Deutschen Arzneibuches für Studierende der Pharmazie. 1967, 162, 182.
- 8.-9. Melichar, M. Pharmazie 1958, 325; 1958, 330.
10. Государственная Фармакопея СССР, IX изд., 1961, 208; 259, 736.
11. Horák, P. Českoslov. Farmacie 1956, 149.
12. Tomingas, A. Pharmacia 1934, 8, 197.

**VESIVÄLJATÕMMATISTE VALMISTAMINE TURBO- EHK
KEERISEKSTRAKTSIOONIL**

**I osa. Leesikalehtede (Fol. Uvae ursi) ja nurme-
nukujuurte (Rad. Primulae) väljatõmmatised**

**M. Veiderpass, L. Kirsch, E. Keich, R. Pääbo,
E. Rebane ja E. Rull**

R e s ü m e e

Leesikalehtede keedise asendamine turbotõmmatisega (valmistatud droogi 10-minutisel ekstraheerimisel kuuma veega) võimaldab sama väärtusega ravimi saamist 3 korda lühema ajaga.

Nurmenukujuurtest aga ekstraheerub turbomeetodil suhteliselt vähe nii ekstraktiivaineid kui ka saponiine (rohke vaht halvendab ekstraheerimistingimusi). Seega vajab saponiindroogide vesiväljatõmmatiste valmistamine turbomeetodil edaspidist põhjalikumat uurimist.

О ВОЗМОЖНОСТЯХ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ЭСТОНСКИХ ГЛИН В ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ ПРАКТИКЕ

Сообщение I. Изучение некоторых адсорбирующих свойств глин месторождения Йоосу и Вийвиконна

Н.Вейдерпасс, Л.Кири, Э.Каск, Э.Киккас, Т.Саар
и Э.Вомм

Изучение природных ресурсов Эстонской ССР с целью выяснения пригодности их для использования в медицине и фармации является весьма актуальным. Местные природные ресурсы изучены еще мало, особенно заслуживает всестороннего внимания и современного исследования минеральное сырье для того, чтобы выяснить подходящие и нужные для фармацевтической практики вещества.

Из минеральных веществ особый интерес представляют глины, имеющие значение не только для народного хозяйства, но и для использования в медицине и фармации.

Общие сведения об использовании глин дает Р.Э.Грим (1, стр.416; 2). Глины применяются главным образом как высушивающие и адсорбирующие вещества. Селективная адсорбция позволяет некоторые глинистые минералы использовать в качестве молекулярных сит. Глины обладают каталитическими, эмульгирующими, суспендирующими и стабилизирующими свойствами. Они применяются при очистке многих пищевых продуктов и напитков, как, например, ликеров, вин и винного уксуса, пива, сока сахарного тростника, масел и др., а также при производстве и очистке бензина, вазелина, парафина и др.

Биологически активные бентонитовые глины, т.н. бентобиотики, применяются как добавка к кормам домашних животных и к удобрениям для питания растений. Содержащиеся в некоторых глинах биологически активные питательные вещества увеличивают продуктивность скота и сельскохозяйственных культур.

Глины с успехом применяются для удаления радиоактивных отходов из отработанной воды и растворов, несущих радиоактивные вещества и обладающих высокой биологической токсичностью (I, стр.431). Sr 90, Cs 137 и др. адсорбируются из высокорadioактивных отходов глинами с последующей фиксацией этих ионов обжигом при высоких температурах (свыше 1000°C), при которых происходит остекление глин и переход радиоактивных веществ в нерастворимое состояние. Таким образом предотвращается растворение радиоактивных веществ и заражение ими окружающей местности.

Уже многие сотни лет глины используются при производстве терапевтических, желудочных и адсорбирующих препаратов (I, стр.452). По-видимому, глины обладают способностью адсорбировать яды и бактерии, которые вызывают понос, рвоту, тошноту и спазмы при различных желудочных инфекциях и обволакивать воспаленные слизистые оболочки пищеварительного тракта.

Для внутреннего употребления глины должны быть чистыми, т.е. свободными от примесей тяжелых металлов и других вредных для организма веществ. Обычно глины не содержат мышьяка, свинца и др., а если содержат, то в очень незначительном количестве, но глина, используемая для медицинских целей, должна постоянно подвергаться анализу. Глины для медицинских целей не должны содержать грубых частиц ($< 0,01$ мм) и не должны придавать неприятного вкуса и запаха препаратам, приготовленным из них.

Глины (например, содержащие аттапульгит) служат противоядием при отравлениях морфином, кокаином, никотином и ипекакуаной. При отравлениях стрихнином и аконитином они менее эффективны, хотя даже и в этих случаях они могут спасти жизнь в комбинации с NaH_2PO_4 . Каолиновые суспензии, введенные вместе с противостолбнячной сывороткой, усиливают защиту последней по отношению к столбнячному токсину.

Бентониты введены в состав антигельминтных средств для животных для изгнания или разложения кишечных глистов.

Монтмориллонитовые, аттапульгитовые или каолининовые глины часто используются для приготовления паст, мазей и примочек для наружного употребления. Из противовоспалительных препаратов особое значение имеют суспензионные, гелеобразующие и адсорбирующие свойства этих глинистых минералов. Бентонит используется для получения суспензии сульфата бария, применяемой при рентгеновских исследованиях внутренних органов.

При токсикологических анализах используется способность глин к селективной адсорбции для очистки таких веществ как кофеин, кантаридин и сантонин. Некоторые глинистые минералы используются в процессах концентрации и очистки витаминов.

В литературе имеются данные (I) о применении монтмориллонитовых, аттапульгитовых или каолининовых глин при производстве косметических средств, так как они обеспечивают мягкость, дисперсность, студневидность, эмульсионность, адсорбирующие или другие свойства этих препаратов.

Из вышеизложенного выясняется обширность использования разных глин, и это обстоятельство возбудило интерес к изучению свойств эстонских глин.

Всесторонне и глубоко исследованы и внедрены в практику бентонитовые глины (2-9). В Эстонской ССР бентонитовых глин нет, но местами найден мета-бентонит (10). Так как получение этой глины связано с трудностями и природные запасы ее незначительны, то для исследования были выбраны не метабентонит, а другие глины республики.

Экспериментальная часть

Для исследования свойств эстонских глин летом 1966 года были взяты пробы из месторождения Кунда (камбрий), Йоосу (девон) и Вийвиконна (четвертичная система).

Пробы глин очищали от примесей, сушили, предварительно измельчали, а затем порошоквали в шаровой мельнице и просеивали через фармакопейное сито № 2 (размер отверстий шел-

кового сита на свету 0,16 мм - ГОСТ 4403-56, № сита по ГОСТу 38).

Бентонитовую глину "Тиха Асканья" и 5 местных проб подвергали сравнительному изучению. Глины нумеровались: № 1 - бентонитовая глина, № 2 - серая глина Йоосу, № 3 - коричневая глина Йоосу, № 4 - поверхностная глина (светло-серая) Кунда, № 5 - синяя глина Кунда, № 6 - глина Вийвиконна (серовато-коричневая).

Со всеми глинами делали пробы набухания-осаждения. Для этой цели всыпали малыми порциями 2 г порошка глины в 100 мл воды, имеющейся в мерном цилиндре. Следующую порцию добавляли после полного осаждения раньше прибавленной порции. Оставляли на 24 часа. Результаты даны на рис.1.

На основании полученных результатов выбрали две пробы глин - № 2 (Йоосу) и № 6 (Вийвиконна), которые дали особенно плотную и стойкую суспензию - после 2-недельного стояния суспензии сохранили свою первоначальную мутность, что указывает на то, что размеры частиц не превышают 1 мкм (начинающееся броуновское движение препятствует осаждению).

Минералогический состав изучаемых глин определяли на кафедре геологии Тартуского государственного университета в минералогическом кабинете с помощью рентгендифрактометра УРС-50 ИМ, пользуясь мерами частиц ориентированных препаратов около 1 мкм. Из анализа выяснилось, что серая глина месторождения Йоосу состоит главным образом из гидрослюда и каолинита, а глина месторождения Вийвиконна - из гидрослюда и хлорита (встречался еще кварц и другие примеси).

Часть от каждой глины переводили в Na-форму. Для этого глину обрабатывали 10%-ым раствором хлорида натрия и периодически взбалтывали в течение 3 дней. После этого глину освобождали от Cl-иона при помощи декантации водой.

Промытую глину выпаривали на водяной бане, порошоквали и нагревали в сушильном шкафу в течение 2 часов при температуре 170°. При нагревании (стерилизации) свойства глины не должны изменяться. Полученные пробы глин в Na-форме испытывали на их набухание-осаждение (см.рис.2). Глина № 2

Рис. 1

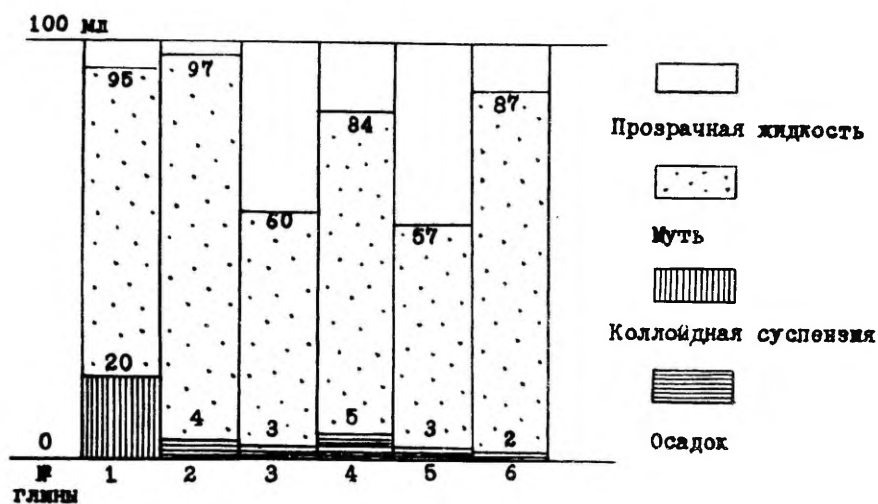
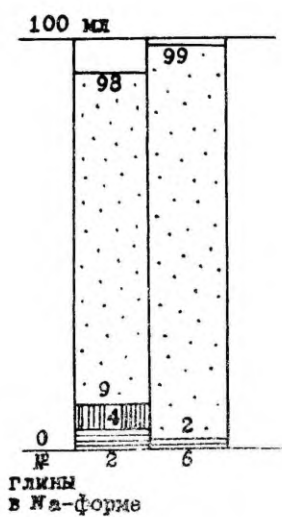


Рис. 2



(Йоосу) в Na-форме дает на поверхности осадка коллоидную суспензию приблизительно в 5 мл. В остальной части жидкости была стойкая густая суспензия. Глина № 6 (Вийвиконна) в Na-форме дает при сравнении с первоначальной формой более плотную и устойчивую суспензию, но не дает такого коллоидного слоя, как предыдущая глина. Глина № 6 и ее суспензии вследствие содержания железа имеют коричневый или желтоватый оттенок.

Для исследования адсорбционной способности глин и их Na-форм проводили предварительные опыты с метиловым синим по методу Фармакопей СССР IX изд., который предусмотрен для анализа белой глины (*Bolus alba*) (II). Выяснилось, что изучаемые пробы глин полностью адсорбируют краситель. При этом глина осаждается плотным темно-синим осадком, жидкость над осадком становится прозрачной и бесцветной. Значительно отличается осаждение Na-форм изучаемых проб глин. Глина № 2 в Na-форме осаждается медленнее, чем глина № 6 в Na-форме, и полученные суспензии сохраняют стойкость свыше 2 дней.

Затем определяли количество адсорбированных экстрактивных веществ из настоек валерьяны, зверобоя и алоэ (*Tinct.Valerianae*, *Tinct.Hyperici*, *Tinct.Aloes*). Для этого настойки валерьяны и зверобоя разбавляли 1:5 с 70° и 40° алкоголем, а настойку алоэ 1:100 с 40° алкоголем.

Полученные растворы как и используемые растворители (70° и 40° алкоголь) взбалтывали в течение 30 минут с изучаемыми пробами глин и после 24-часового осаждения фильтровали. При адсорбции экстрактивных веществ образуются стойкие коагуляты, размеры частиц которых значительно больше, чем размеры частиц глины, вследствие чего осаждение их протекает быстро и полученные системы хорошо фильтруются. Только смеси, содержащие настойку алоэ, различали от предыдущих, так как отделение глины фильтрованием оказалось невозможным и отделить глину удалось лишь при помощи центрифугирования.

В полученных фильтратах и растворах настоек определялся сухой остаток. Выяснилось, что глины адсорбируют часть экстрактивных веществ, содержащихся в изучаемых настойках. 100 г глины № 2 адсорбировали 0,36-1,23 г экстрактивных веществ, 100 г глины № 6 - 0,16-0,95 г (см. табл. I).

Таблица I

Настойка \ Глина	Количество адсорбированных веществ в г на 100 г глины	
	Йоосу	Вийвиконна
Настойка валерьяны	1,23	0,89
Настойка зверобоя	0,88	0,95
Настойка алоэ	0,36	0,16

Затем приступили к изучению способности глин адсорбировать также вещества, важные для фармацевтической практики: алкалоиды, дубильные вещества и др. Ниже приводятся данные адсорбции атропина из водных растворов сульфата атропина. Растворы сульфата атропина (точной концентрацией) взбалтывались с изучаемыми глинами. В отличие от предыдущих опытов с метиленовым синим и настойками из смесей, содержащих сульфат атропина, глины не осаждались даже при продолжительном стоянии (в течение 2 недель). Для определения неадсорбированного атропина смеси центрифугировали и полученную прозрачную жидкость анализировали фотонейфелометрическим методом (12).

Данные адсорбированного атропина приведены в таблице 2.

Как видно из данных проведенных исследований, глина № 2 адсорбирует приблизительно в три раза больше атропина, чем глина № 6.

Выводы

Из проведенных опытов видно, что глины № 2 и № 6 (мес-

Таблица 2

Г л и н а	Количество адсорбированного атропина в г на 100 г глины
Глина № 2 (Йоосу)	0,146
Глина № 2 (Йоосу) в Na-форме	0,154
Глина № 6 (Вийвиконна)	0,0525
Глина № 6 (Вийвиконна) в Na-форме	0,0430

торожения Йоосу и Вийвиконна) обладают выраженными свойствами образования суспензии по сравнению с другими изученными глинами. Адсорбирующие свойства глин № 2 и № 6 различны, причем глина № 2 адсорбирует примерно в 3 раза больше атропина, чем глина № 6, также несколько больше суммы экстрактивных веществ валерьяны и алоэ, но меньше экстрактивных веществ зверобоя, чем глина № 6.

Адсорбирующие свойства эстонских глин требуют дальнейшего изучения для выяснения их пригодности к использованию в фармацевтической (как аналитической, так и производственной) практике.

Литература

1. Грим, Р.Э. Минералогия и практическое использование глин. (Перевод с английского В.И.Финько и С.С.Чечкина), 1967.
2. Совещание по исследованию глин и глинистых минералов. Тезисы докладов. АН СССР Инст.геол.рудн.месторожд. петрогр., минерал. и геохимии. Москва, 1966.
3. Жакова М.А. Изучение технологии и реологических свойств мазей и их концентратов на основе некоторых бентонитовых глин. Канд.дисс. Тарту, 1965. (См.также - Аптеч.дело, 1964, 5, 23; 1966, 2, 29).

- 4.-5. Zathurecky, L., Mandák, M. Českosl. Farmac. 1957, 7, 375; 10, 599.
- 6.-7. Gruntová, Z., Zathurecky, L., Somogkeőy, G. Ibid. 1960, 5, 217; 6, 282.
8. Благовицкова, Ю.А. и Тенцова, А.И. Аптеч. дело, 1961, 6, 64.
9. Сало, Д.П. и Чигрин, З.Т. Ibid. 1963, 1, 14.
10. Aaloe, A. Eesti Loodus, 1967, 7, 443.
11. Государственная Фармакопея СССР, IX изд. 1961, 88.
12. Kirsch, L. ja Roosa, M. Nõukogude Eesti Tervishoid 1958. Lisa (tead. tööde kogumik). 1959, 85.

EESTI NSV SAVIDE KASUTATAVUS FARMAATSIAS

I osa. Joosu ja Viivikonna savide mõningate adsorptsiooniomaduste uurimine

N. Veiderpass, L. Kirsch, E. Kask, E. Kikkas,
T. Saar ja E. Vomm

R e s ü m e e

Joosu (nr. 2) ja Viivikonna (nr. 6) savid annavad väga püsivaid suspensioone, võrreldes teiste Eesti NSV savidega. Adsorptsioonivõime on savidel nr. 2 ja nr. 6 erinev. Savi nr. 2 adsorbeerib umbes 3 korda rohkem atropiini kui savi nr. 6, samuti ka mõnevõrra rohkem palderjani ja aaloe ekstraktiivaineid, kuid vähem naistepuna ekstraktiivaineid kui savi nr. 6.

Eesti savide adsorptsiooniomaduste uurimine väärrib veel edaspidist jätkamist, selleks et selgitada nende kasutamise võimalusi farmatseutilises analüüsis ja tootmispraktikas.

NAATRIUM-PARAAMINOSALITSÜLAADI KVANTITATIIVSEST MÄÄRAMISEST

V. Hansen, E. Luik, H. Pais

Paraaminosalitsüülhappe-naatriumi (PAS-Na) kvantitatiivsel määramisel NSVL IX Riikliku Farmakopöa (IX F.) joodkloriidimeetodil (1) saadakse meie tähelepanekute ja praktikast saabuvate signaalide alusel kõikuvaid, mitte-standardseid, ebareaalseid tulemusi.

Õeldu andis tõuke uurida PAS-Na kvantitatiivse määramise mooduseid, leida neist täpsem ja ökonoomsem. Selle eesmärgi saavutamiseks valiti meie seniste kogemuste ja kirjandusandmete alusel järgmised meetodid: 1) diasotomeetria (nitritomeetria), 2) argentomeetria, 3) atsidimeetria, 4) sadestusmeetod (järgneva jodomeetriaga), 5) tiitrimine veeta keskkonnas erinevates solventides meetmete mõõtlahuste ja indikaatoritega. Meetodite ökonoomsuse selgitamiseks arvutati aja- ja materjalide kulu rahalises väärtuses; täpsuse (katsevea) hindamisel võeti aluseks matemaatilis-statistilisel meetodil arvutatud tulemused (8).

Loetletud meetodite uurimisel tehti kõik analüüsid sama preparaadiga. Eelnevalt määrati preparaadi kvaliteet IX F. järgi. Puhtuse teinudelt vastas kasutatav PAS-Na täielikult IX F. nõuetele. Kvantitatiivse sisalduse hindamisel IX F. joodkloriidimeetodil teostati iga kaalutise puhul 6 - 9 üksiktiitrimist poolmikrobüretist. Saadud andmed (vt. tabel 1) osutusid küll sama kaalutise puhul lähedasteks (hälve

maksimaalselt 2 - 3 %), kuid erinevate kaalutiste määramisel sedavõrd hüplikeks ja ebatõenäoliselt kõrgeteks, et nende alusel ei olnud võimalik hinnata preparaadi kvantitatiivset sisaldust.

T a b e l 1

Jrk. nr.	PAS-Na kaalu- tis g	Leitud sisaldus %		Jrk. nr.	PAS-Na kaalu- tis g	Leitud sisaldus %	
		üksikmää- ramisel	kesk- mine			üksikmää- ramisel	kesk- mine
1.	0,4490	102,53	103,72	5.	0,5070	105,52	109,05
		103,23				109,85	
		103,23				109,85	
		102,76				109,22	
		104,87				110,16	
		103,93				109,95	
		104,64				108,60	
		103,93				110,16	
		104,40				108,18	
2.	0,5152	103,49	104,23	6.	0,5304	107,29	107,02
		103,90				106,80	
		104,41				108,29	
		105,44				107,40	
		104,10				106,60	
		104,82				106,60	
		104,92				106,20	
		103,49				107,29	
		103,49				106,69	
3.	0,5489	106,75	106,33	7.	0,5054	103,20	102,66
		106,75				102,78	
		106,18				102,57	
		106,94					
		106,37				102,15	
		104,73				102,88	
		107,23				102,36	
		105,89					
		105,28					
4.	0,5766	102,27	102,97	8.	0,4552	110,06	111,21
		103,09				112,96	
		103,18				110,87	
		102,27				110,64	
		102,54				111,33	
		104,46				111,33	
						111,33	

Saadud tulemused on kõrgemad tõenäolisest sisaldusest, sest preparaadi puhtuse ja kristallvee lendumise arvele neid kirjutada ei saa. Kristallvee-sisalduseks oli 17,0%, seega peaks preparaat olema praktiliselt 100%-line, analüüsi andmetel aga 102,66 ... 111,21%-line.

Järelikult ei võimalda IX F. joodkloriidimeetod PAS-~~ga~~ kvantitatiivsel analüüsil saada rahuldavaid tulemusi, mistõttu kirjeldame järgnevas meie eksperimente sobivama meetodi leidmiseks.

1. Diasotomeetria (nitritomeetria)

Võrdlusteks valiti V.S. Eremejeva jt. soovitatud diasotomeetriline meetod (2). Nii sellel kui ka paljude teiste autorite poolt soovitatud diasotomeetrilistel meetoditel esineb üldisi, diasoteerimise kemismist tingitud häirivaid puudusi: 1) vajadus järgida temperatuurirežiimi, 2) aeglus (üheks analüüsiks kulub 70 min.) ja 3) ekvivalentpunkti sõltuvus reast tegureist, nagu valitavast indikaatorist, tema hulgast ja lisamise ajast, lisatava soolhappe kontsentratsioonist ja hulgast.

V.S. Eremejeva ja kaasautorite analüüsi eeskirja muudeti vaid selle võrra, et tavalise büreti asemel kasutati tiitrimisel poolmikrobüretti. Tulemused on koondatud tabelisse 2.

Üksikkatsete hälve püsib täiesti rahuldavais piirides, ulatudes maksimaalselt 0,58%-le (98,90 - 98,32 %) ja annab statistilisel meetodil arvutatud katseveaks 0,15 %. Indikaatori värvuse muutus ekvivalentpunktis (oranžist kollaseks) pole eriti terav ja nõuab määramisel suurt vilumust.

Ekvivalentpunkti täpsustamiseks katsetasime mõnede erinevate indikaatoritega ja muutsime nende lisandamise järjestust:

1) lisati algul 4 tilka tropeoliini OO ja ca 2 ml enne ekvivalentpunkti saabumist lisati 2 tilka metüleensini-

se lahust. Oodatud järsku värvuse muutust ei toimunud;

2) lisati endises koguses samu indikaator-lahuseid, kuid vahetult enne tiitrimist. Algul tekkinud roheline värvus muutus juba pärast 3 ml naatriumnitritilahuse lisamist heleroheliseks ja püsis tiitrimise lõpuni;

3) indikaator metüülvioleti suhtes oli üleminek roheliselt kollasele järkjärguline.

T a b e l 2

Katse jrk. nr.	Võetud PAS-Na kaalutis g	Leitud PAS-Na sisaldus	
		g	%
1.	0,2484	0,2442	98,32
2.	0,2510	0,2481	98,84
3.	0,2588	0,2554	98,69
4.	0,2536	0,2503	98,68
5.	0,2490	0,2452	98,43
6.	0,2372	0,2341	98,69
7.	0,2356	0,2319	98,43
8.	0,2418	0,2386	98,69
9.	0,2938	0,2906	98,90
Keskmine sisaldus %			98,63
Maksimaalne hälve			0,58 %
Katsevea %			0,15

Kirjanduses märgitud teiste indikaatoritega ega potentsiomeetrilise tiitrimisega katseid ei jätkatud diasotomeetrilise meetodi eespool nimetatud üldiste puuduste tõttu.

Meie arvamusel tuleb diasotomeetriat praegusel kujul kasutada vaid ratsionaalsemate analüüsimeetodite puudumisel, vältimatutel juhtudel, ja kui diasotomeetria osutub ratsionaalsemaks teistest meetoditest.

2. Argentomeetria

Määramiseks valiti Th. Boehmi ja G. Horschi soovitatud meetod (3). Iga kaalutise lahjendusest tehti 3 paralleelkatset. Analüüsi tulemused esitame tabelis 3.

T a b e l 3

Katse jrk. nr.	Võetud PAS-Na kaalutis g	Leitud PAS-Na sisaldus			
		g		%	
1.	1,4628	1,4453	1,4443	98,83	98,75
2.		1,4453		98,83	
3.		1,4423		98,60	
4.	1,4836	1,4625	1,4637	98,58	98,66
5.		1,4661		98,82	
6.		1,4625		98,58	
7.	1,4914	1,4693	1,4704	98,52	98,59
8.		1,4726		98,74	
9.		1,4693		98,52	
Keskmine sisaldus %		98,67			
Maksimaalne hälve		0,31%			
Katsevea %		0,10			

Maksimaalne hälve üksikkatsete vahel (vt. tabel 3) oli maksimaalselt vaid 0,31 % ja statistiliselt arvutatud katsevea 0,1 %.

Järelikult on meetod hinnatav täpsuse ja ratsionaalsuse tõttu. Ainsaks negatiivseks jooneks on meetodi rakendamisel vältimatu filtreerimisoperatsioon.

Materjalide säästmiseks soovitame Th. Boehmi ja G. Horschi esitatud eeskirjas muuta ainult PAS-Na lähtekaalutis poole väiksemaks (1,5 g asemel 0,75 g) ja lahustada see 100-ml mõõtekolvis. Filtrimise ja filtraadi esi-

nese osa eemaldamise järel piisab ülejäänud filtraadist kolmeks paralleelkatseks.

3. A t s i d i m e e t r i a

Neutraliseerimismeetodid - atsidimeetria-alkali-meetria - on teiste kvantitatiivse analüüsi moodustega kõrvutades enamikul juhtudel eelistatavamad, kui vaid teimitava aine keemiline iseloom võimaldab nende rakendamist. Ökonoomsusest võib erandi moodustada tiitrimine vee- ta keskkonnas, mida käsitleme hiljem.

PAS-Na atsidimeetriat vaatles sadestusmeetodi ja argentomeetria kõrval teiste autorite hulgas M.S. Baron (4). Kahjuks ei analüüsi autor oma uurimuse tulemusi kriitiliselt ega anna hinnangut üksikutele meetoditele.

Atsidomeetriliselt tiitrisime PAS-Na metüüloranži ja kombineeritud indikaatori (1 tilk metüüloranži + 2 tilka metüleensinise lahust) suhtes (M.S. Baroni poolt kirjeldatud viisil) ja saime järgmised tulemused (vt. tabel 4).

T a b e l 4

Jrk. nr.	Võetud PAS-Na kaalutis g	Leitud PAS-Na sisaldus %			
		indik. metüüloran- ži suhtes		kombineeritud indik. suhtes	
1.		97,88		99,60	
2.	4,2273	97,99	97,92	99,50	99,53
3.		97,88		99,50	
4.		97,77		99,39	
5.	4,2105	97,52	97,52	99,49	99,46
6.		97,26		99,49	
7.		97,48		99,46	
8.	4,2119	97,43	97,31	99,66	99,53
9.		97,33		99,46	
Keskmine sisaldus %		97,62			99,51
Maksimaalne hälve		0,73 %			0,27%
Katsevea %		0,21			0,07

Kasutades samast kaalutisest valmistatud PAS-Na lahendust, saadi tiitrimisel indik. metüüloranži manulusel keskmiselt 2 % võrra madalam resultaat kui kombineeritud indikaatori puhul. Värvuse muutumine ekvivalentpunktis saabub kombineeritud indikaatori kasutamisel kiiremini, järsemalt ja on paremini fikseeritav kui metüüloranži puhul. Kombineeritud indikaatori manulusel saadakse ka preparaadi tõelisele kvantitatiivsele sisaldusele (vt. lk. 4, argentomeetria) lähedasem protsendiline väärtus. Seega tuleb indikaatori valikul eelistada siin kombineeritud indikaatorit.

4. Sadestusmeetod

Töötaja säästu seisukohalt on sadestusmeetodid üldiselt ebaökonoomsed sadestamiseks, filtrimiseks ja kontrollimiseks kuluva aja tõttu. Objektiiivsete võrdlusandmete saamiseks võeti meetod siiski vaatlusele. PAS-Na lahusest sadestati vasksulfaadi abil PAS-Cu M.S. Baroni (4) eeskirja kohaselt ja saadi tabelis 5 esitatud tulemused.

T a b e l 5

Jrk. nr.	Voetud PAS-Na kaalutis g	Leitud PAS-Na sisaldus %	
1.	1,0008	99,20	99,20
2.		99,20	
3.		99,20	
4.		98,83	
5.	1,9746	98,48	98,66
6.		98,66	
7.		98,64	
8.		98,64	
9.	1,9750	98,46	98,58
Keskmine sisaldus %		98,81	
Maksimaalne hälve		0,74 %	
Katsevea %		0,24	

Kuigi meetod täpsuselt rahuldab, pole ta siiski majanduslikust seisukohast vastuvõetav. Arvutus näitab, et sadestusmeetodi kasutamine on teiste käesolevas töös uuritud meetoditega võrreldes kõige kulukam, välja arvatud diasotomeetria (vt. tabel 8).

5. T i i t r i m i n e v e e t a k e s k k o n n a s

Neutralisatsioonimeetodite valikul eelistatakse esma-
joones tiitrimist vesilahustes, sest tiitrimine veeta keskkonnas kätkeb mitmeid negatiivseid tegureid. Viimase puudus-
tena märgime orgaaniliste solventide hinda, nende veetusta-
mist ja veetuna säilitamist, mitmesuunalist ohtlikkust (tu-
le- ja plahvatusoht, toksilisus) ning sageli ka vajalike sol-
ventide ja indikaatorite defitsiitsust.

Teiselt poolt on paljude ainete happelisus-leelisus se-
davõrd väike, et neid pole võimalik vesilahustes tiitrida, ja
neil juhtudel oleme sunnitud analüüsiks valida tiitrimise
veeta keskkonnas.

Võrdlevateks uurimisteks sobiva variandi valik on siin
tunduvalt keerukam kui eelmiste meetodite puhul. Tuleb leida
sobiv solvent, resp. solventide segu kombinatsioon, segusse
kuuluvate solventide hulgaline suhe, sobiv indikaator ja mõõt-
lahus.

Orgaaniliste hapete soolade tiitrimisel kasutatakse di-
ferentseerivaid ja happelisi solvente. Diferentseerivaist va-
liti alkoholid (metanool, isopropanool, glükool ja dioksaan)
või nende kombinatsioonid ning happelistest - veeta äädik-
hape. Mõõtlahusena kasutati 0,1 n perkloorhapet, millega tiit-
riti erinevate indikaatorite suhtes.

5.1. Katsed isopropanooli+glükooli (1:1) seguga

Mõõtlahusena kasutati 0,1 n perkloorhapet samas solvendis.

1. Katsed indikaator metüülpunase suhtes ei andnud tulemusi, sest värvuse üleminek on järkjärguline, ebaterav.

2. Tümoolsinise kasutamisel esineb samuti aeglane värvuse muutus, ekvivalentpunkti piirkonnas oranžist roosaks alles mitme tilga perkloorhappega. Värvuse muutus on jälgitav vaid võrdluslahusega kõrvutades ja sedagi ebakindlalt.

3. Tiitrimisel broomfenooolsinise suhtes esinesid ligilähedalt samataolised raskused.

4. Ka metüüloranž ja 5) broomkreesoolroheline ei osutunud sobivaiks.

6. Fenoollftaleiini kasutamine ei andnud samuti tulemusi.

Et Santi R. Paliti ja kaasautorite andmeil (5) teravustavad mõned tiitritavale segule väheses koguses lisatavad ained ekvivalentpunkti, siis katsetati äsja loetletud indikaatoritega paralleelselt (2 tilka kuni 2 ml) kloroformi ja fenoolilahuse toimet. Seegi võtte ei andnud positiivseid tulemusi.

PAS-Na tiitrimisel 0,1 n perkloorhappega isopropanooli-glükooli segus saadi kõigi loetletud indikaatorite suhtes negatiivsed resultaadid, mistõttu siinkohal tulemuste arvulisi väärtusi ei esitatud.

5.2. Katsed veeta metanooliga

Th. Boehm ja G. Horsch (3) soovivad solvendina metanooli, mõõtlahusena 0,1 n perkloorhapet dioksaanis ja indikaatorina tümoolsinist.

Töö ettevalmistamisel ilmnes, et mõõtlahuse valmistami-

sel 1) jääb mõõtekohu põhja valge sade ja 2) faktori määramiseks kasutatav naatriumkarbonaat ei lahustu dioksaanis. Seetõttu kasutati tiitrimiseks pärast ööpäevast seismist sademelt dekanteeritud mõõtlahust. Faktor määrati tahke ja väheses hulgas vees lahustatud Na_2CO_3 kaalutisega. Tulemused olid mõlemal juhul samad.

PAS-Na analüüsi tulemused esitame tabelis 6.

T a b e l 6

Katse jrk. nr.	Võetud kaalutis g	Leitud PAS-Na sisaldus	
		g	%
1.	0,0484	0,0477	98,64
2.	0,0500	0,0492	98,48
3.	0,0528	0,0522	98,95
4.	0,0482	0,0476	98,83
5.	0,0498	0,0492	98,87
6.	0,0446	0,0438	98,17
7.	0,0464	0,0458	98,74
8.	0,0514	0,0507	98,72
9.	0,0492	0,0497	98,99
Keskmine sisaldus %			98,71
Maksimaalne hälve			0,82 %
Katsevea %			0,19

Tulemused on, nagu tabelist 6 nähtub, stabiilsed, katseviga madal. Kui eelmise segu-solvendi puhul ei saadud ühegi indikaatoriga stabiilseid tulemusi, siis siin on värvuse üleminek järsk (tiitriti küpse virsiku värvuseni).

Meetodi väärtust ei tohiks vähendada see asjaolu, et metanool on kuulutatud rangelt arvestatavaks mürgiks.

5.3. Katsed veeta äädikhappegaga

Katsed veeta äädikhappegaga tehti järgnevalt: 0,05 g preparaati (täpne kaalutis) lahustati 20 ml-s veeta äädikhappes. Aeglase lahustuvuse tõttu loksutati ca 5 min. Lisati indikaatorina 2 tilka kristallvioleti veeta-äädikhappelahust ja tiitriti 0,1 n perkloorhappe veeta-äädikhappeli-se lahusega mõõdukas tempos kuni sinise värvuse ilmumiseni. Seismisel muutub värvus roheliseks, mistõttu pole soovitatav liiga aeglaselt tiitrida.

Tulemused (vt. tabel 7) olid niivõrd head, et meetodit võib eelistada kõigile eespool kirjeldatud veeta keskkonnas tiitrimise meetoditele ja nende variantidele (välja arvatud p. 5.2, kus täpsus on küll suurem, kuid nii metanool kui ka dioksaan on äädikhapest siiski ohtlikumad).

T a b e l 7

Katse jrk. nr.	Võetud kaalutis g	Leitud PAS-Na sisaldus	
		g	%
1.	0,0454	0,0453	99,76
2.	0,0482	0,0482	99,93
3.	0,0486	0,0490	100,86
4.	0,0480	0,0478	99,68
5.	0,0398	0,0401	100,67
6.	0,0452	0,0451	99,95
7.	0,0520	0,0516	99,18
8.	0,0442	0,0439	99,33
9.	0,0460	0,0460	100,07
Keskmine sisaldus %			99,94
Maksimaalne hälve			1,68 %
Katsevea %			0,42

6. Uuritud meetodite ökonoomika

Kõigi meetodite rakendamisel arvestati materjalide ja tööaja kulu. (Tööaeg kronometreeriti.) Materjalid hinnati kehtivate preiskurantide alusel, tööaja kulu kalkuleeriti rahalises väärtuses analüütiku palgamäära alusel. Materjalide ja tööaja kulu on arvestatud ühe katse kohta ning esitatud tabelis 8. Kulude kalkuleerimisel pole arvestatud eeltöödeks (reaktiiv-, indikaator- ja mõõtlahuste valmistamine) kuluvat aega.

T a b e l 8

Meetodi nimetus	Tööaja kulu		Materjali kulu kop.	Kokku kop.
	min.	kop.		
Joodkloriidimeetod	25	24,5	1,6	26,1
Diasotomeetria	70	68,6	0,3	68,9
Argentomeetria	25	24,5	1,6	26,1
Atsidimeetria				
a) metüüloranžiga	25	24,5	6,9	31,4
b) segaindikaatoriga	20	19,6	6,9	26,5
Sadestusmeetod	50	49,0	6,7	55,7
Tiitrimine veeta keskkonnas				
a) metanoolis	20	19,6	3,5	23,1
b) äädikhappes	25	24,5	3,6	28,1

Kulude kalkulatsioonist ilmneb, et meetodi kulukus sõltub peamiselt töömahukusest ja suhteliselt tähtsuse-
tumal määral materjalidest. Materjalide kulus omakorda moodustab olulisema osa analüüsitava aine kogus (tavali-
lise atsidimeetria puhul suurem kui teiste meetodite juu-
res!).

Uuritud meetodeist osutub tömahukamaks ja seega kõige kallimaks diasotomeetria ning temale järgnevana sadestusmeetod. Töaja kulu (20-25 min.) ülejäänud meetodite kasutamisel ja seega üldmaksumus on ligilähedaselt võrdsed (23,1 kop. tiitrimisel veeta metanoolis kuni 31,4 kop. atsidimeetrilisel tiitrimisel metüüloranži suhtes).

7. A r u t l u s j a k o k k u v ö t e

PAS-Na kvantitatiivsel analüüsil pole otstarbekas kasutada diasotomeetria (nitrotomeetria) tömahukuse ja sellega seoses kõrge maksumuse tõttu. Samuti puudub diasotomeetrias hea indikaator. Ka meie katsed mõnede siseindikaatoritega ei andnud tulemusi. PAS-Na nitritomeetria on küll üsna põhjalikult uuritud (näit. isegi 1967. a. avaldatud L.N. Guseva kandidaadiväitekirjas (6)), kuid radikaalsemaid parandusettepanekuid pole tehtud. Sellega seoses pole mõistetav, miks uude, NSVL X-sse Farmakopöasse (7) on võetud ikkagi PAS-Na nitritomeetria.

Tavalise atsidimeetrilise meetodi kasutamisel annab kombineeritud indikaator paremaid tulemusi kui metüüloranž. Sadestusmeetodi täpsus küll rahuldab, kuid majanduslikust seisukohast on ta teistest käesolevas töös vaadeldud meetoditest kulukam.

Tiitrimist veeta keskkonnas uuriti erinevate solventide või nende segude ja mitmete indikaatorite suhtes. Katsed isopropanooli+glükooli seguga (1:1) ei andnud 6 erineva indikaatoriga ja nende värvuse ülemineku teravustamiseks lisandatud ainetega rahuldavaid resultate. Katsed tiitrida PAS-Na metanoolis ja äädikhappes andsid peaaegu võrdselt häid tulemusi. Metanooli ohtlikkuse tõttu võib eelistada solvendina äädikhapet.

Kõrvutades PAS-Na kvantitatiivse analüüsi meetodite ratsionaalsust usaldatavuse, täpsuse ja maksumuse alusel, osutuvad uuritud meetoditest ja nende variantidest ligi-

lähedalt võrdselt hinnatavaiks argentomeetria, atsidimeetria kombineeritud indikaatori suhtes ja tiitrimine veeta äädikhappes.

K i r j a n d u s

1. Государственная фармакопея IX. Москва, 1961, стр.311-312.
2. Еремеева, В.С., Подойкова, Л.Н., Петрова, Р.И., Морусова, З.С. и Сивицкая, О.К. - Аптечное дело, 1960, № 3, с. 60-63.
3. Boehm, Th. und Morsch, G. - Pharmaz. Zentralhalle 92 (1953), S.128.
4. Барон, М.С. - Аптечное дело, 1955, № 5, с. 17-19.
5. Палит Шанти Р., Дас Махр Натх., Сомаяджуду Г.Р. - Неводное титрование (перевод с английского). Москва, 1958, стр. 9-17, 43-52.
6. Гусева, Л.Н. - Использование внутренних индикаторов при нитритометрическом определении фармацевтических препаратов. Москва, 1967 (канд. дисс.).
7. Государственная фармакопея X. Москва, 1968, стр. 448-450.
8. Алесковский, В.Б. и др. Физико-химические методы анализа. Москва, 1964, стр. 24-42.

КОЛИЧЕСТВЕННЫЙ АНАЛИЗ НАТРИЯ ПАРА-АМИНОСАЛИЦИЛАТА

В. Хансен, Б. Луйк, Х. Пуис

Резюме

Для количественного определения пара-аминосалицилата натрия (ПАСК - Na) нецелесообразно применять диазометрию (нитритометрию) из-за трудоемкости и дороговизны. Кроме того, нет хорошего индикатора для этого метода. Наши опыты с некоторыми внутренними индикаторами также не дали результатов. Хотя нитритометрия ПАСК - Na и изучалась довольно основательно (например, в кандидатской диссертации Гусева Л.Н., 1967 г.) радикальных предложений сделано не было. В связи с этим непонятно, почему в новую Государственную фармакопею СССР X издания все-таки введен нитритометрический метод?!

При применении ацидометрического метода комбинированный индикатор дает лучшие результаты, чем метилоранж. Несмотря на то, что точность метода осаждения вполне удовлетворяет, он все же менее экономичен, чем другие рассмотренные в данной работе методы.

Титрование в безводной среде изучалось с различными растворителями и их смесями и в присутствии различных индикаторов. Опыты со смесью изопропанол + гликоль (1:1) с 6 различными индикаторами и веществами, добавленными для улучшения перехода окраски не дали удовлетворительных результатов. Опыты титрования ПАСК - Na в метаноле и в уксусной кислоте дали почти одинаково хорошие результаты. Из-за ядовитости метанола можно предпочесть в качестве растворителя уксусную кислоту.

Сравнивая рациональность методов количественного анализа ПАСК - Na по их достоверности, точности и стоимости, оказалось, что из исследованных методов и их вариантов равноценными были аргентометрия, ацидометрия с комбинированным индикатором и титрование в безводной уксусной кислоте.

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ МЕТОДОВ РАСЩЕПЛЕНИЯ ФОЛИЕВОЙ КИСЛОТЫ В ПАРА-АМИНОБЕНЗОЙНУЮ КИСЛОТУ

И.Крузе, А.Кикас, Р.Планк, Т.Хинрикус

Для анализа фолиевой кислоты применяются, главным образом, методы, основанные на расщеплении фолиевой кислоты восстановлением цинковой пылью (1,2), ртутно-цинковой амальгамой (3) или окислением перманганатом калия (4) до п-аминобензойной кислоты, которая после диазотирования сочетается с N-(1-нафтил)-этилендиаминдигидрохлоридом. Интенсивность образующейся фиолетовой окраски пропорциональна концентрации и измеряется фотоэлектроколориметрически или спектрофотометрически.

В литературе встречаются противоречивые данные об эффективности того или другого метода. Метод окисления перманганатом калия S.S.Schiaffino, J.M.Webb, H.W.Loy и O.L.Kline (5), а также O.Pelletier и J.A.Campbell (6) характеризуют как достоверный. Последние, пользуясь этим методом, провели определение фолиевой кислоты в поливитаминных препаратах. А.М. Алиев (7,8) получил при окислении перманганатом калия заниженные результаты по сравнению с методом восстановления цинковой пылью и предполагает, что в этих условиях не происходит полного количественного превращения фолиевой кислоты в п-аминобензойную. Также имеются данные, что результаты, полученные при восстановлении ртутно-цинковой амальгамой, на I, I - 2,8% выше данных, получаемых при восстановлении цинковой пылью (9).

Задачей настоящей работы было путем сравнения трех перечисленных методов выяснить глубину процесса расщепления фолиевой кислоты в п-аминобензойную кислоту.

Анализировались поступившие в аптечную сеть препараты фолиевой кислоты различного качества.

Сначала проводили анализ содержания влаги в препаратах (преп. № 1 - 8,0%, № 2 - 7,7%, № 3 - 8,0%, № 4 - 7,3% влаги) и определение содержания свободной α -аминобензоилглутаминовой кислоты (результаты приведены в табл. I). Оптическую плотность растворов измеряли на фотоэлектроколориметре с зеленым светофильтром 550 μ в кюветах с толщиной слоя 3 см.

В первой части настоящей работы приводятся результаты сравнительного определения различных образцов фолиевой кислоты (связанной α -аминобензоилглутаминовой кислоты) с помощью восстановления цинковой пылью и ртутно-цинковой амальгамой.

Результаты опытов вычислялись соответственно показателям оптической плотности с калибровочной кривой, для составления которой была использована α -аминобензойная кислота, очищенная активированным углем и многократно перекристаллизованная из этилового спирта.

Для расщепления фолиевой кислоты использовали высококачественную цинковую пыль. Ртутно-цинковая амальгама изготовлялась по инструкции Британской Фармакопеи (3, стр. 805). Анализ проводили по инструкции МРТУ 467-62 (I), варьируя только восстановитель.

Результаты анализа приведены в табл. 2. Как выясняется из данных, в обоих случаях при расщеплении фолиевой кислоты были получены практически совпадающие результаты. В I и 3 препаратах фолиевой кислоты при восстановлении ртутно-цинковой амальгамой были получены несколько более высокие средние показатели. Относительная погрешность метода при восстановлении цинковой пылью составляет от $\pm 1,49$ до $\pm 3,26\%$, при восстановлении ртутно-цинковой амальгамой от $\pm 1,35$ до $\pm 3,84\%$.

Чтобы выяснить значение степени измельченности используемого для восстановления цинка, была проведена серия сравнительных опытов с цинковой пылью и крупным порошком активированного цинка. Последний брался в 10-кратном количестве по сравнению с цинковой пылью. При восстановлении

Таблица I

Содержание свободной парааминобензоилглутаминовой
кислоты в фолиевой кислоте

Препарат №	Найдено свободной парааминобензоилглутаминовой кислоты (в %)	
	на естественную влажность	на сухое вещество
I	8,20 8,22 5,12 В среднем 6,74 7,17 6,61 5,12	8,91 8,93 5,57 В среднем 7,33 7,79 7,18 5,57
2	4,42 5,24 5,09 В среднем 4,77 4,27 5,09 4,48	4,79 5,68 5,51 В среднем 5,16 4,63 5,51 4,85
3	3,67 3,08 4,47 В среднем 3,61 3,67 3,08 3,67	3,99 3,35 4,86 В среднем 3,92 3,99 3,35 3,99
4	3,91 3,80 4,16 В среднем 4,06 4,32 3,73 4,41	4,22 4,10 4,49 В среднем 4,38 4,66 4,02 4,76

Таблица 2

Анализ фолиевой кислоты методом восстановления цинковой пылью и
ртутно-цинковой амальгамой

Препарат №	Найдено при восстановлении цинковой пылью (в %)		Данные статистической обработки					Найдено при восстановлении ртутно-цинковой амальгамой (в %)		Данные статистической обработки				
	на естественную влажность	на сухое вещество	\bar{x}	S	$S_{\bar{x}}$	ϵ_{α}	$\epsilon_{отн. \%}$	на естественную влажность	на сухое вещество	\bar{x}	S	$S_{\bar{x}}$	ϵ_{α}	$\epsilon_{отн. \%}$
1.	81,90	89,02	81,55	2,53	1,03	2,66	3,26	82,05	89,18	83,71	3,06	1,25	3,21	3,84
	83,62	90,89						84,54	91,89					
	78,69	85,53						86,20	93,70					
	85,26	92,67						79,56	86,48					
	79,51	86,42						87,86	95,50					
	80,31	87,29						82,05	89,18					
	$\bar{X}=81,55$	$\bar{X}=88,64$						$\bar{X}=83,71$	$\bar{X}=90,99$					
2.	83,06	89,99	84,66	1,21	0,50	1,27	1,51	85,47	92,60	84,56	1,08	0,44	1,14	1,35
	84,04	91,05						84,86	91,94					
	84,04	91,05						84,88	91,96					
	86,49	93,71						85,00	92,09					
	85,47	92,60						82,41	89,28					
	84,86	91,94						84,74	91,81					
	$\bar{X}=84,66$	$\bar{X}=91,72$						$\bar{X}=84,56$	$\bar{X}=91,61$					
3.	85,89	93,36	85,32	1,21	0,50	1,27	1,49	89,74	97,54	87,27	2,47	1,01	2,59	2,97
	85,92	93,39						84,23	91,55					
	85,92	93,39						85,08	92,48					
	86,09	93,58						89,33	97,10					
	82,93	90,14						85,93	93,40					
	85,16	92,57						89,33	97,10					
	$\bar{X}=85,32$	$\bar{X}=92,74$						$\bar{X}=87,27$	$\bar{X}=94,86$					

раствора фолиевой кислоты одинаковой концентрации (0,1 мг/мл) с использованием крупного порошка цинка были получены показатели оптической плотности в среднем на 62% ниже, чем при цинковой пыли (см. табл. 3), несмотря на частое взбалтывание и энергичное выделение водорода.

Поэтому, при восстановлении цинковой пылью надо учитывать, что реакция восстановления зависит от качества применяемой цинковой пыли и не всегда протекает количественно.

Недостатком метода восстановления ртутно-цинковой амальгамой является то, что получение амальгамы связано с большими трудностями.

Довольно значительная часть опытов не удалась из-за возникновения интенсивного фиолетово-красного цвета вместо фиолетового. Для выявления причин неудачи условия опыта варьировались. Выяснилось, что причиной неудачи является неполное выделение двуокиси азота из раствора в течение 5 минут после прибавления мочевины. Поэтому выражение в инструкции "... прибавляют по 1 мл 12%-ного водного раствора мочевины, перемешивают и оставляют на 5 минут" следовало бы заменить на "... прибавляют по 1 мл 12%-ного водного раствора мочевины и взбалтывают до полного удаления двуокиси азота (до прекращения выделения пузырьков газа)".

Во второй части работы приводятся результаты определения фолиевой кислоты с помощью восстановления цинковой пылью и окисления с раствором перманганата калия. Ввиду того, что метод ХУІ фармакопеи США (4) нельзя было использовать из-за отсутствия сульфата аммония и подходящего препарата фолиевой кислоты в качестве стандарта, была разработана модификация этого метода, применяя вместо сульфата аммония мочевины, вместо стандарта фолиевой кислоты стандарт α -аминобензойной кислоты, и чтобы результаты были бы сравнимы с описанными выше методами и применимы в практике контрольного анализа, спектрофотометр был заменен фотоэлектроколориметром. Учитывая достаточную стабильность образовавшегося азокрасителя в водной среде, его экстрагирование в слой изобутилового спирта не проводилось.

Таблица 3

Среднительное определение оптической плотности
раствора при восстановлении цинковой пылью и крупным
порошком цинка

О п т и ч е с к а я п л о т н о с т ь , D	
При восстановлении цинко- вой пылью	При восстановлении крупным порошком цинка
0,435	0,153
0,433	0,170
0,430	0,165
0,420	0,170
0,445	0,173
0,441	0,148
В среднем	В среднем
0,434	0,163

Между показателями оптической плотности и концентрации наблюдалась прямолинейная зависимость в интервале концентрации α -аминобензойной кислоты 0,001 – 0,04 мг/20 мл.

Определения мы проводили по следующей методике:

Приготовление стандартного раствора α -аминобензойной кислоты. 0,0500 г α -аминобензойной кислоты (т.пл.186–187°, с содержанием не ниже 99%) отвешивают в бюкс и после растворения в спирте раствор количественно переносят в мерную колбу емкостью 50 мл, бюкс промывают несколько раз спиртом (общее количество спирта 25 мл), раствор доводят в колбе водой до метки и перемешивают. 1 мл полученного раствора помещают в мерную колбу емкостью 100 мл, доводят до метки 3% раствором двузамещенного калия фосфата и перемешивают. В 1 мл раствора содержится 0,01 мг α -аминобензойной кислоты.

Определение свободной и связанной α -аминобензоил-глютаминовой кислоты.

Точную навеску препарата (0,05 г) растворяют в 0,1 н. раствора едкого натра. Раствор количественно переносят в мерную колбу емкостью 50 мл, несколько раз промывают 0,1 н. раствором едкого натра, сливая промывную жидкость в ту же колбу; объем раствора доводят 0,1 н. раствором едкого натра до метки и перемешивают. Из полученного раствора 1 мл помещают в мерную колбу емкостью 100 мл и объем доводят 3% раствором двузамещенного калия фосфата до метки и перемешивают.

В 3 колбы емкостью 50 мл, отмеченные 1, 2, 3 соответственно, помещают пипеткой по 2 мл приготовленного раствора. В первую колбу добавляют 0,5 мл стандартного раствора α -аминобензойной кислоты и доводят объем в каждой колбе до 5 мл 3% раствором двузамещенного калия фосфата и перемешивают. В первую и во вторую колбы добавляют по 1 мл 0,4% раствора калия перманганата, перемешивают и оставляют на 2–3 минуты. В третью колбу добавляют 1 мл воды. Затем по-

ступают одинаково со всеми растворами. В каждую колбу добавляют по 1 мл 2% раствора нитрита натрия и по 2 мл 8,3% соляной кислоты, перемешивают и оставляют на 2 минуты. После этого в каждую колбу прибавляют по 1,5 мл 20% раствора мочевины и взбалтывают до полного удаления двуокси азота. Затем в каждую колбу добавляют по 1 мл 0,1% водного раствора N - (1-нафтил)-этилендиамина дигидрохлорида, 8,5 мл воды и перемешивают. Через 10 минут измеряют оптическую плотность растворов на электрофотоколориметре с зеленым светофильтром 550 $m\mu$ в кюветах с толщиной слоя 3 см.

Вычисление содержания фолиевой кислоты в препарате

Содержание фолиевой кислоты в препарате в процентах (x) вычисляют по формуле:

$$x = \frac{(D_2 - D_3) \cdot 0,005 \cdot 3,22 \cdot 50 \cdot 100 \cdot 100}{(D_1 - D_2) \cdot a \cdot 1 \cdot 2 \cdot 1000}$$

где D_2 - оптическая плотность раствора, содержащего только исследуемый препарат (колба 2);

D_1 - оптическая плотность раствора, содержащего стандартный раствор (колба 1);

D_3 - оптическая плотность раствора без перманганата калия (соответствует содержащейся в препарате свободной p -аминобензоилглутаминовой кислоте) (колба 3);

0,005 - количество мг p -аминобензойной кислоты, содержащегося во взятом количестве стандартного раствора;

a - навеска в г;

3,22 - фактор пересчета p -аминобензойной кислоты на фолиевую;

50 - объем первого разведения, в мл;

100 - объем второго разведения, в мл;

- 1 - количество раствора первого разведения, взятое для второго разведения, в мл;
- 2 - количество раствора второго разведения, взятое на определение, в мл;
- 100 - пересчет в %;
- 1000 - пересчет в г.

После сокращения формула приобретает следующий вид:

$$x = \frac{(D_2 - D_3) \cdot 1,61 \cdot 2,5}{(D_1 - D_2) \cdot a}$$

Результаты определений приведены в табл.4, откуда является, что при обоих методах расщепления фолиевой кислоты были получены практически совпадающие результаты. Относительная погрешность метода при восстановлении цинковой пылью составляет от $\pm 2,26$ до $\pm 3,26\%$ (выше ср. $\pm 1,49 - 3,26\%$), при окислении с раствором перманганата калия от $\pm 1,78$ до $\pm 2,74\%$.

Полученные результаты позволяют сделать вывод, что расщепление фолиевой кислоты с раствором перманганата калия происходит в данных условиях количественно. При указанном методе для анализа в целом потребуются 70 минут, т.е. на 20 минут меньше, чем при цинковой пыли, и на 30 минут меньше, чем с ртутно-цинковой амальгамой.

Учитывая возможность того, что в случае применения цинковой пыли восстановление может происходить не количественно, в зависимости от качества цинковой пыли, и принимая во внимание сложность изготовления ртутно-цинковой амальгамы, нужно предпочесть метод расщепления фолиевой кислоты окислением перманганатом калия как объективный, более быстрый и простой для выполнения.

При проведении анализов колориметрическими методами нужно учитывать следующее:

Таблица 4

Анализ фолиевой кислоты методом восстановления цинковой
пылью и окисления перманганатом калия

Препарат №	Найдено при восстановлении цинковой пылью (в %)		Данные статистической обработки					Найдено при окислении перманганатом калия (в %)		Данные статистической обработки				
	на естественную влажность	на сухое вещество	\bar{x}	S	$S_{\bar{x}}$	ϵ_{α}	$\epsilon_{отн. \%}$	на естественную влажность	на сухое вещество	\bar{x}	S	$S_{\bar{x}}$	ϵ_{α}	$\epsilon_{отн. \%}$
I.	81,90 83,62 78,69 85,26 79,51 80,31 $\bar{x}=81,55$	89,02 90,89 85,53 92,67 86,42 87,29 $\bar{x}=88,64$	81,55	2,53	1,03	2,66	3,26	79,93 84,79 80,36 84,33 82,56 80,41 $\bar{x}=82,06$	86,88 92,16 87,35 91,66 89,74 87,40 $\bar{x}=89,20$	82,06	2,15	0,88	2,25	2,74
4.	88,90 86,49 87,26 91,52 90,40 88,04 $\bar{x}=88,77$	95,90 93,30 94,73 98,73 97,52 94,97 $\bar{x}=95,76$	88,77	1,91	0,78	2,01	2,26	88,35 89,39 86,51 91,13 88,60 89,12 $\bar{x}=88,85$	95,31 96,43 93,32 98,31 95,58 96,14 $\bar{x}=95,85$	88,85	1,51	0,62	1,58	1,77

1) Содержание свободной α -аминобензоилглутаминовой кислоты следует определять непосредственно после растворения фолиевой кислоты в 0,1 н. растворе едкого натра, ибо в противном случае, вследствие расщепления фолиевой кислоты, данные о содержании свободной кислоты могут оказаться больше действительных.

2) Нужно применять очень мелкую и высококачественную цинковую пыль.

3) Использовать свежизготовленные растворы нитрита натрия и N-(1-нафтил)-этилендиамина дигидрохлорида.

4) После прибавления раствора мочевины следует взбалтывать до полного удаления двуокси азота.

Выводы

1) Проведено сравнительное изучение методов расщепления фолиевой кислоты в α -аминобензойную, основанных на восстановлении цинковой пылью или ртутно-цинковой амальгамой в кислой среде или на окислении в слабо щелочном растворе с раствором перманганата калия.

2) Все три метода дают практически совпадающие результаты.

3) Для колориметрического определения фолиевой кислоты предлагается модификация метода окисления раствором перманганата калия, который можно проводить проще и быстрее, чем восстановление цинковой пылью или ртутно-цинковой амальгамой.

Литература

1. Межреспубликанские технические условия на лекарственные средства. М., 1963, № 2, с.9.
2. Девятнин, В.А. Методы химического анализа в производстве витаминов. М., 1964, с.201.

3. British Pharmacopeia. London, 1958, p. 278, p. 805.
4. The Pharmacopeia of the United States of America, XVI. Easton, 1960, p. 898.
5. Schiaffino, S.S., Webb, J.M., Loy, H.W., Kline, O.L. J. Am. Pharm. Ass., 1959, vol. 48, p. 236.
6. Pelletier, O., Campbell, J.A. J. of Pharmac. Sciences, 1961, vol. 50, p. 208.
7. Алиев, А.М. Аптечное дело, 1963, № 6, с.40.
8. Он же. Исследование в области фотометрии препаратов витаминов группы "В". Автореф. докт.дисс., М., 1964.
9. Kaselis, R.A. et al. Analytic. Chem., 1951, vol. 23, p. 756.

FOOLHAPPE p-AMINOBEESOEHAPPEKS LAGUNDAMISE ERINEVATE MEETODITE VÖRDLEV UURIMUS

I. Eruse, A. Kikas, R. Plank, T. Hinrikus

R e s ü m e e

1. Uurititi vördlevalt foolhappe p-aminobensoehappeks lagundamise erinevaid meetodeid, mis baseeruvad foolhappe taandamisel happelises keskkonnas tsinktolmu või tsinkamalgamiga või oksüdeerimisel nõrgalt leeliselises keskkonnas kaaliumpermanganaadilahusega.

2. Kõik kolm meetodit andsid praktiliselt kokkulangevaid resultate. Tsinktolmuga lagundades saadi meetodi suhteliseks veaks $\pm 1,5 - \pm 3,3 \%$, tsinkamalgami puhul $\pm 1,4 - \pm 3,8 \%$ ja kaaliumpermanganaadi puhul $\pm 1,8 - \pm 2,7 \%$.

3. Foolhappe kolorimeetriliseks määramiseks esitatakse kaaliumpermanganaadimeetodi modifikatsioon, mis on täpsem, lihtsam ja kiirem võrreldes tsinktolmu- või tsinkamalgamimeetodiga.

FOOLHAPPE KOLORIMEETRILISE JA POLAROGRAAFILISE ANALÜÜSI MEETODITE VÖRDLEV UURIMUS

I. Kruse

Foolhappe kvantitatiivseks määramiseks polüvitamiin-preparaatides ja bioloogilistes materjalides kasutatakse sagedamini füüsikalisi-keemilisi analüüsimeetodeid, eriti fotokolorimeetriat (1, 2, 3, 4), spektrofotomeetriat (5, 6, 7, 8) ja fluoromeetriat (1, 9, 10). Kuigi tundlikkuselt ületab fluoromeetriline meetod paljukordselt kolorimeetrilise meetodi, eelistatakse farmatseutiliste preparaaside analüüsis siiski viimast.

Kolorimeetrilised analüüsimeetodid baseeruvad kas foolhappe taandamisel soolhappelises lahuses tsinktolmu (1, 2, 3, 4) või tsinkamalgaamiga (5) või nõrgalt leeliselises keskkonnas kaaliumpermanganaadilahuse (6, 7, 8) toimel oksüdeerimisel vabaneva p-aminobensoehappe diasoteerimisel ja tekkinud diasotehendi paaristamisel N-(1-naftüül)-etüleendiamiidihüdrokloriidilahusega ammooniumsulfaadi (5, 6, 7) või karbamiidi (1, 2, 3, 4) juuresolekul. Tekkinud asotehend värvib lahuse violetseks. Kontsentratsiooniga proportsionaalsel viiruse intensiivsust mõõdetakse otse fotoelektrokolorimeetriliselt (1, 2, 3, 4) või spektrofotomeetriliselt, kas otsekõne (5, 8) või pärast asotehendi väljaloksutamist isobutüülalkohol (6, 7) 550 mμ juures.

Et foolhappe kolorimeetriliseks määramiseks on ehitatud mitmeid meetodeid, siis ratsionaal-

sema selgitamiseks võrreldi neid omavahel. Meil kasutusel olevaist meetoditest osutus kõige usaldatavamaks Üleliidulise Vitamiinide Teadusliku Uurimise Instituudi poolt esitatatu (4). Üleliidulise Keemilis-Farmatseutilise Teadusliku Uurimise Instituudi poolt esitatud meetodi eeskiri aga sisaldab vigu, mis põhjustavad analüüsis ekslikke resultate.

Polarograafiliseks foolhappe kvantitatiivseks määramiseks on samuti esitatud mitmeid mooduseid. Ülevaate neist esitavad P. Zuman ja M. Brezina (11) ning E. Knobloch (12). Polüvitamiinpreparaatide puhul soovitas Y. Asahi (13) foolhappe määramist teostada 0,1 n soolhappelahuses, W.J. Mader ja H.A. Frediani (14) tetrametüülammooniumhüdrosiid-ammooniumkloriidpuhvril $\text{pH} = 9,3$, J.B. Duncan ja J.E. Christian (15) boraatpuhvril $\text{pH} = 9,0$.

Seega, nagu nähtub ülaltoodust, soovitatakse foolhappe määramiseks kas tugevalt happelist või leeliselist fooni. Ilmselt võeti siin aluseks foolhappe suhteliselt kergem lahustuvus sellistes keskkondades.

Kuid kirjanduses leidub andmeid ka selle kohta, et pterüülglutamiinhape (foolhape) pole püsiv mineraalhapete (16) ja leeliste juuresolekul (17), eriti vesilahuses $\text{pH} = 9,2$. Samad autorid näitasid, et neutraalses või nõrgalt happelises lahuses laguneb foolhape märgatavalt vähem ja aeglasmalt kui $\text{pH} = 9,2$ juures (1 nädala jooksul ca 8 - 15 korda vähem).

Kuna meie eelkatsed osutasid booraks-fosfaatpuhverlahuse sobivusele foolhappe polarografeerimise foonina, kontrolliti seda üksikasjalikumalt.

Booraks-fosfaatpuhverlahuses (18) pH piirkonnas 5,8 kuni 9,2 käitub foolhape nii nagu teistes sama pH -väärtustega puhvrites (19, 20, 21), andes kaks taandusastet happelises keskkonnas ja ainult ühe (esimese) leeliselises keskkonnas. Analüüsiks sobib paremini esimene laine, mille pool-lainepotentsiaal ($E_{1/2}$) puhverlahuses $\text{pH} = 5,8$ on $-0,63 \text{ V}$ ja lahuses $\text{pH} = 9,2$ $-0,85 \text{ V}$; $\text{pH} = 6,8$ puhul on $E_{1/2}$ võrdne $-0,696 \text{ V}$ -ga (anoodina kasutati küllastatud kalomelelektroodi).

Järgnevalt uuritigi lähemalt booraks-fosfaatpuhverlahust pH = 6,8, sest eelisenä võimaldab see foon samast lahusest kvantitatiivselt määrata peale foolhappe samaaegselt veel askorbiinhapet ja riboflaviini (22).

Et selgitada taandusvoolu iseloomu, kontrolliti lainekõrguse sõltuvust elavhõbeda rõhust (joon. 1). Lainekõrguste ja elavhõbeda reservuaari kõrguste ruutjuurte vahel valitses difusioonivoolule iseloomulik sirgjooneline sõltuvus. Samuti kontrolliti taandusvoolu iseloomu temperatuuri muutmisega 16° C kuni 40° C piirkonnas. Selgus, et temperatuurikoefitsient (ω) võrdub 1,67 %, s. o. voolutugevus (1) suureneb 1,67 % temperatuuri tõstmisel 1 kraadi võrra. Temperatuurikoefitsient arvutati valemi $\omega = \frac{1}{I} \cdot \frac{dI}{dt}$ järgi (23). Temperatuurikoefitsient on samuti difusioonivooludele iseloomulikus suurusjärgus.

Samuti täheldati lineaarset sõltuvust foolhappe kontsentratsiooni ja lainekõrguse vahel puhverlahuses pH = 6,8 (joon. 2).

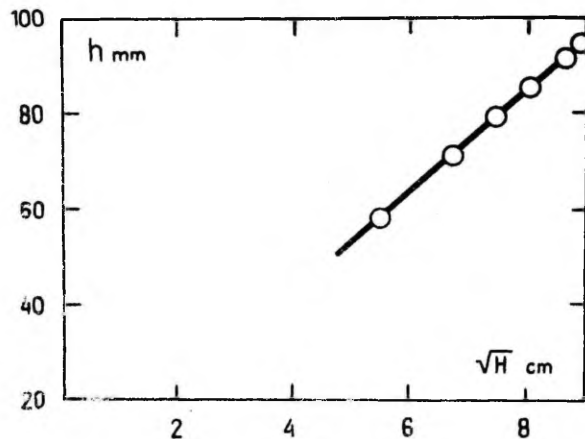
Järelikult on taanduslaine difusiooniline ja teda põhjustab foolhappe redutseerimine 7,8-dihüdfoolhappeks.

Arvestades ülalõeldut, valiti foolhappe määramistel fooniks booraks-fosfaatpuhver pH = 6,8. Sellises puhverlahuses lahustub foolhappe täiesti rahuldavalt - 10-minutilise loksutamise järel 0,21 g 100 ml-s. (Polarograafiliseks otstarbeks kasutati 10^{-4} - 10^{-5} mol. lahuseid, s. o. ca 0,0044 g - 0,00044 g 100 ml-s puhvris.) Taanduslaine on selgelt väljendunud kujuga (joon. 3) ja selle määramist ei sega teised segudes leiduvad vitamiinid. Foolhappe stabiilsus samas puhverlahuses on hea - 0,01%-lise foolhappelahuse 1-kuuse säilitamise järel toatemperatuuril pimedas ei täheldatud polarograafilise laine kõrguse alanemist.

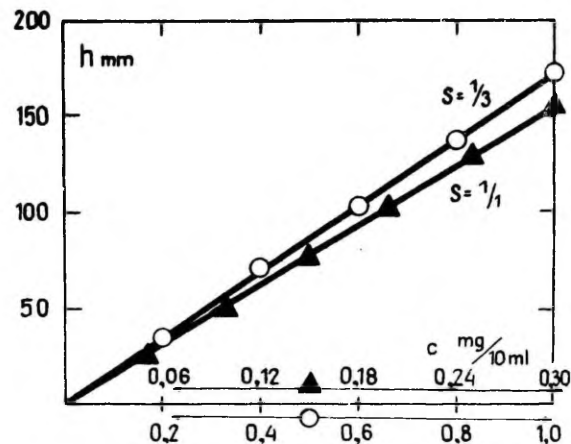
Eksperimentide alusel töötati välja foolhappe polarograafiliseks analüüsiks järgnev meetoodika.

Vajalikud reaktiivid:

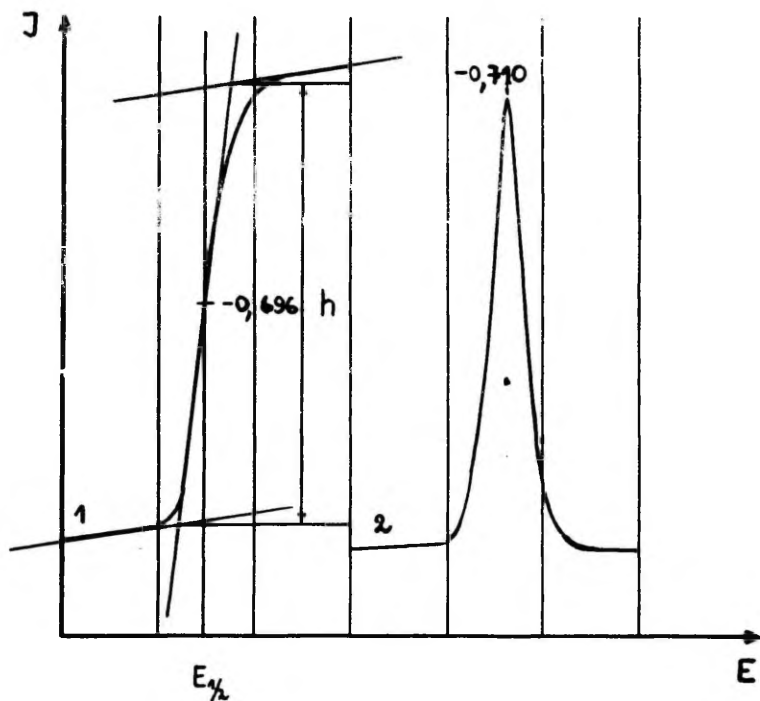
1) 6,8 pH-line booraks-fosfaatpuhverlahus,



Joon. 1. Foolhappe lainekõrguse (h) sõltuvus elavhõbereservuaari kõrguse ruutjuurest (\sqrt{H}). Foolhappe kontsentratsioon 0,052 mg/ml. Booraks-fosfaatpuhverlahus ($\text{pH} = 6,8$).



Joon. 2. Lainekõrguse (h) sõltuvus foolhappe kontsentratsioonist (c) polarografeeritavas lahuses. 0 - 0,50 mg/10 ml, $S = 1/1$ ja 0 - 1,0 mg/10 ml, $S = 1/3$. Booraks-fosfaatpuhverlahus ($\text{pH} = 6,8$).



Joon. 3. 0,01%-lis. foolaappelahuse polarogrammid. Laine 1 - tavaline polarogramm, $S = 1/70$, laine 2 - diferentsiaalne polarogramm, $S = 1/1$. Lained registreeritud elates $-0,4 \text{ V}$, -200 mV/absts. , võrdlusel - küllastatud kalomelelektrood, booraks-fosfaat-punverlahus ($\text{pH} = 6,8$).

2) foolhappe 0,05%-line standardlahus* booraks-fosfaatpuhvr-
ris (pH = 6,8).

Hoolikalt peenestatud ja segatud polüvitamiinpreparaadi proovist kaalutakse täpne hulk ja lahustatakse loksutamisel 10 - 15 min. jooksul booraks-fosfaatpuhvr-
ris pH = 6,8 sellise mahuga mõõtekolvis, et foolhappe kontsentratsioon oleks umbes 10^{-4} mol. piirkonnas, s. o. umbes 4,4 mg foolhapet 100 ml puhvr-
ris. Määramisel on madalaimaks foolhappe kontsentratsiooniks 0,5 mg/100 ml.

Lahustamise järel täidetakse mõõtekolb märgini sama puhvriga, segatakse ja jäetakse mõneks minutiks seisma lahustumatute osiste settimiseks. Tablettide ja dražeede analüüsil pole enamikul juhtudel vajalik täiteaineid filtrimisel eemaldada, sest need ei sega polarografeerimist.

Kindel hulk lahust (10 ml) mõõdetakse rakku, juhitakse 10 minuti jooksul läbi lahuse lämmastikku ja polarografeeritakse elektronpotentsiomeetri sobiva tundlikkuse juures ping-
ge intervallis -0,5 V kuni -0,9 V. Seejärel lisatakse selline hulk standardlahust (ca 0,5 - 1 ml), et foolhappe kontsentratsioon suureneks umbes kaks korda võrreldes algla-
husega, ja polarografeeritakse uuesti.

Foolhappesisaldus arvutatakse valemi järgi:

$$x = \frac{c_{st}}{\frac{h_x}{h_x} \cdot \frac{v_x + v_{st}}{v_{st}} - \frac{v_x}{v_{st}}} \cdot \frac{d \cdot v}{a},$$

kus x - foolhappe hulk analüüsitava materjali ühikus (kas ühes dražees, tabletis või pulbris) (mg), c_{st} - standardla-
huse kontsentratsioon (mg/ml), h_x - uuritava lahuse laine-

* Standardina kasutati preparaati, mis sisaldas foolhapet 88,90 %, vaba p-aminobensoülglutamiinhapet 4,36 % ja niiskust 6,51 % /määratil metoodika MPTY 467-62 järgi (4)/. Vaba p-aminobensoülglutamiinhape ei sega määramist, sest ta polarograafiliselt ei taandu.

kõrgus (mm), h - uuritava lahuse + standardlahuse laine-
 kõrgus (mm), v_x - rakku viidud uuritava lahuse hulk (ml),
 v_{st} - rakku viidud standardlahuse hulk (ml), v - uuritava
 lahuse üldhulk (ml), d - analüüsitava materjali ühiku (kas
 ühe dražee, tableti või pulbri) keskmine kaal (g), a - ana-
 lüüsiks võetud materjali kaalutis (g).

Määramised tehti Heyrovský-tüüpi polarograafia LP55A,
 mis ühendati elektronpotentsiomeetriga (tüüp eKBTI EN - SDV)
 polarograafiliste lainete vahetuks registreerimiseks.

Elavhõbe-tilkelektroodina kasutati kas elektroodi A,
 mille $m = 1,888 \text{ mg/s}$, $t = 3,03 \text{ s}$, $m^{2/3} \cdot t^{1/6} = 1,837 \text{ mg}^{2/3}$.
 . $s^{-1/2}$ või elektroodi B elavhõbetilkade sundkatkestiga,
 mille $m = 1,637 \text{ mg/s}$, $t = 0,25 \text{ s}$, $m^{2/3} \cdot t^{1/6} = 1,103 \text{ mg}^{2/3}$.
 . $s^{-1/2}$. Polüvitamiinsegude analüüsil osutus sobivamaks
 elektrood B.

Võrdluselektroodina kasutati küllastatud kalomelelekt-
 roodi. Raku konstruktsioon oli analoogiline S.G. Mairanovski
 ja F.S. Titovi (24) poolt esitatuga. Kõikidel määramistel
 hoiti temperatuur ultratermostaadi abil konstantsena -
 $+25^\circ \text{ C} \pm 0,2^\circ \text{ C}$.

Vitamiinpreparaatide polarograafilise määramise tule-
 mused on toodud tabelis 1. Et selgitada, kas polarograafi-
 line määramismenetlus ei sisalda mõnd meetodilist viga,
 analüüsiti samad vitamiinsegud paralleelselt ka fotoelekt-
 rokolorimeetriliselt (4) ja tulemused paigutati samasse ta-
 belisse. Üleliidulise Keemilis-Farmatseutilise Teadusliku
 Uurimise Instituudi poolt esitatud fotokolorimeetrilist mee-
 todit ei saa vahetult kasutada, sest selle eeskiri sisaldab
 mõningaid vigu. Et see meetod on esitatud laialt kasutata-
 vates käsiraamatutes (1, 2), siis peeti otstarbekaks märki-
 da järgmist.

1. Kalibreeritud graafiku koostamiseks valitud põh-
 jendamatult suured p-aminobensoehappe hulgad ei vasta võe-
 tud koguse foolhappe taandamisel vabaneva p-aminobensoehap-
 pe hulkadele.

2. Foolhappepreparaadis sisalduva vaba p-aminobenso-
 üülglutamiinhappe määramise kohta on öeldud: "2 ml lahust
 A viiakse 15 - 20-ml mahuga kolbi, lisatakse 8 ml vett..."
 8 ml asemel peab olema 3 ml.

3. Foolhappe hulga arvutamiseks preparaadis antakse
 valem

$$x = \frac{(a - b) \cdot 25 \cdot 3,22}{10},$$

kus x - foolhappe hulk (g), a - kalibreeritud graafiku
 alusel leitud vaba ja seotud p-aminobensoüülglutamiinhap-
 pe koguhulk (mg), b - kalibreeritud graafiku alusel leitud
 vaba p-aminobensoüülglutamiinhappe hulk (mg), 25 ja 10 -
 konstantsed koefitsiendid, 3,22 - faktor p-aminobensoüül-
 glutamiinhappe hulga ümberarvutamisel foolhappeks.

Ülaltoodud valemis on 3,22 faktor p-aminobensoehappe
 (mitte p-aminobensoüülglutamiinhappe) hulga ümberarvutami-
 sel foolhappeks. Selles valemis pole arvestatud foolhappe
 ja p-aminobensoüülglutamiinhappe molekulaalude erinevust
 ja faktiliselt nii a kui ka b korrutatakse 3,22-ga, mis
 ei ole õige, sest viib madalamatele tulemustele. (Foolhappe
 molekulaal on 441,4, p-aminobensoüülglutam inhappel 266,3
 ja p-aminobensoehappel 137,1. Seega $\frac{441,4}{137,1} = 3,22$ ja $\frac{266,3}{137,1} =$
 $= 1,94$.)

Valem peaks olema järgmine:

$$x = \frac{(a \cdot 3,22 - b \cdot 1,94) \cdot 25}{10}$$

Ka on A.M. Alijevi (3) poolt parandusena antud valem
 ekslik, nimelt teine faktor 3,22 on liigne ja b tuleb kor-
 rutada 1,94-ga, mitte aga 2,0-ga, kuna p-aminobensoüülglu-
 tamiinhappe molekulaal on 266,3, mitte aga 276,0.

4. p-aminobensoehappe lahustuvus toatemperatuuril eta-
 noolis on 11,3 g 100 ml-s, mitte aga 1,3 g (1, lk. 53), mida
 tuleb arvestada preparaadi ümberkristalliseerimisel standar-
 dina kasutatava preparaadi arvamisel.

Nagu tabelis 1 toodud andmetest nähtub, ei sega foolhappe polarografeerimist segus leiduvad teised vitamiinid, nagu akseroftool (A), tokoferool (E), tiamiinbromiid (B_1), riboflaviin (B_2), kaltsiumpanotenaat (B_3), püridoksiin-hüdrokloriid (B_6), tsüanokoobalamiin (B_{12}), kaltsiumpangamaat (B_{15}), askorbiinhape (C), biotiin (H), p-aminobensoehape (H_1), rutiin (P), nikotiinhape ja tema amiid (PP), koliinkloriid ja tableteerimiseks-dražeerimiseks kasutatavad abiaained (sahharoos, glükoos, laktoos, tärklis, talk jt.).

Nagu nähtub tabelitest 1 ja 2, saadakse ravimsegude analüüsil polarograafilisel ja fotoelektrokolorimeetrilisel meetodil praktiliselt kokkulangevad tulemused; üksikmääramiste aritmeetiliste keskmiste vahe ei ületa $\pm 2,11\%$. Meetodi suhteline viga moodustab polarograafia puhul $\pm 2,2$ kuni $\pm 3,0\%$, fotokolorimeetria puhul $\pm 2,3$ kuni $\pm 6,1\%$. See-ga polarograafilise määramise täpsus (ka dispersioon ja standardhälve) ei sõltu niivõrd analüüsitava segu kompli-tseeritusest kui standardmeetodi täpsus. Fotomeetrilisel meetodil ei ole foolhappe otse määratav p-aminobensoehapet (vit. H_1) sisaldavais segudes; samuti takistab askorbiin-happe kõrge kontsentratsioon diasoteerimisprotsessi kulgu. Polarograafilise meetodi eelis seisneb tema kiiruses (45 min. fotokolorimeetria 90 min. vastu) ja teostamise lihtsuses (polarograafia nõuab 2 nimetust reaktiive standardmeetodi 7 nimetuse vastu, viimaste hulgas ka kallihinnalist import-reaktiiv N-(1-naftüül)-etüleendiamiindihüdrokloriidi). Uuri-tava preparaadid kulu on mõlemal meetodil minimaalne.

T a b e l 1

Foolhappe määramise tulemused vitamiinpreparaatides

Preparaadi nr.	Preparaadi deklareeritud koostis g	Leitud foolhapped				Vahe %	Märkused
		polarogr. meetodil		fotokolor. meetodil			
		g	%	g	%		
1.	Tabletid foolhape 0,002	0,00193	96,5	0,00194	97,0	-0,52	Lubatud kõrvalekaldu mine foolhappesalduses 1 tableti ja dražee kohta ± 10%, 1 pulbri kohta ± 20%
2.	Tabletid foolhape 0,005 askorbiinhape 0,1	0,0048	96,0	0,00471	94,2	+1,91	
3.	Pulbrisegu tiamiinbromiid, riboflaviin, püridoksiinhüdrokloriid AA 0,005, nikotiinamiid 0,01, foolhape 0,002, biotiin 0,00025, p-aminobensoehape 0,002, askorbiinhape, kaltsiumpangamaat AA 0,05, koliinkloriid 0,1	0,00184	92,0	Ei saa määrata		-	
4.	Dražeed akseroftool 0,001, tokoferool 0,01, tiamiinbromiid, riboflaviin AA 0,002, kaltsiumpantotenaat 0,003, tsüanokoobalamiin 0,000002, foolhape 0,0005, nikotiinamiid 0,02, rutiin 0,01, askorbiinhape 0,075	0,000475	95,0	0,000485	97,0	-2,11	

T a b e l 2

Foolhappesisaldus ravimpreparaatides, määratuna polarograafilisel ja fotoelektrokolorimeetrilisel meetodil

Preparaadi nr. (koostis toodud tab.1)	Leitud polarograafil. meetodil mg	Statistilise töötlemise tulemused					Leitud foto-kolor. meetodil mg	Statistilise töötlemise tulemused				
		\bar{x}	S	$S_{\bar{x}}$	$\epsilon_{0,95}$	$\epsilon_{\text{suht.}\%}$		\bar{x}	S	$S_{\bar{x}}$	$\epsilon_{0,95}$	$\epsilon_{\text{suht.}\%}$
1.	1,97 1,89 1,94 1,90 1,95	1,93	0,03391	0,0152	0,0422	2,2	1,98 1,96 1,95 1,89 1,92	1,94	0,03536	0,0158	0,0439	2,3
2.	4,70 4,89 4,75 4,86	4,80	0,08981	0,0449	0,143	3,0	4,84 4,60 4,69 4,76 4,66	4,71	0,09274	0,0415	0,115	2,4
3.	1,83 1,87 1,81 1,79 1,90	1,84	0,04472	0,0200	0,0555	3,0		Ei saa määrata				
4.	0,485 0,476 0,464 0,479 0,471	0,475	0,007969	0,00356	0,00988	2,1	0,500 0,458 0,461 0,510 0,496	0,485	0,02385	0,0107	0,0296	6,1

J ä r e l d u s e d

1. Töös võrreldi foolhappe kvantitatiivset polarograafilist ja fotoelektrokolorimeetrilist määratavust polüvitamiinpreparaatides. Tuuakse mõningad korrektiivid Üleliidulise Keemilis-Farmatseutilise Teadusliku Uurimise Instituudi poolt esitatud foolhappe fotokolorimeetrilise määramise metoodika kohta.

2. Polarograafiliseks määramiseks soovitatakse foonina 6,8 pH-list booraks-fosfaatpuhverlahust. Polarograafilist meetodit iseloomustab küllaldane täpsus, kiirus ja lihtsus, lisaprotseduuride mittevajalikkus ning ökonoomsus analüüsi teostamisel. Polarograafilise meetodi suhteline viga ei ületa $\pm 3,0\%$, fotokolorimeetria viga $\pm 6,1\%$. Esitatud polarograafiline meetod on laiemas kasutamisalaga (määramine on teostatav vahetult ka p-aminobensoehappe ja askorbiinhappe juuresolekul) kui fotoelektrokolorimeetri-line meetod.

K i r j a n d u s

1. Девятинн В.А. (ред.). Методы определения витаминов (химические и биологические). М., 1954, с. 50, с. 51.
2. Перельман Я.М. Анализ лекарственных форм. Л., 1961, с. 379.
3. Алиев А.М. Аптечное дело, 1963, № 6, с. 40.
4. Межреспубликанские технические условия на лекарственные средства. М., 1963, № 2, с. 9.
5. British Pharmacopeia. London, 1958, p. 278.
6. The Pharmacopeia of the United States of America, 16 th rev. Easton, 1960, p. 898.

7. Schiaffino, S.S., Webb, J.M., Loy, H.W., Kline, O.L.
J. Am. Pharm. Ass., Sci. Ed., 1959, vol. 48,
p. 236.
8. Pelletier, O., Campbell, J.A. J. Pharm. Sci., 1961,
vol. 50, p. 208.
9. Гришдец И.Р., Туркевич М.М. Фармацевтический журнал,
1959, № I, с. 18.
10. Лучевская Г.М., Шмигдина А.М., Алеева Л.В. Фармация,
1967, № I, с. 60.
11. Březina, M., Zuman, P. Polarography in Medicine, Bio-
chemistry and Pharmacy. New York, 1958,
p. 394.
12. Knobloch, E. Physikalisch - chemische Vitaminbestim-
mungsmethoden. Berlin, 1963, p. 380.
13. Asahi, Y. The Journal of Vitaminology, 1958, vol. 4,
p. 118.
14. Mader, W.J., Frediani, H.A. Analytical chemistry, 1948,
vol. 20, p. 1199.
15. Duncan, J.B., Christian, J.E. Journal of the American
Pharmaceutical Association, Sci. Ed., 1948,
vol. 37, p. 507.
16. Daniel, E., Kline, O. Journal of Biological Chemistry,
1947, vol. 170, p. 739.
17. Koft, B., Sevag, M.G. Journal of the American Chemical
Society, 1949, vol. 71, p. 3245.
18. Справочник химика. М.-Л., 1965, том III, с. 170.
19. Allen, W., Pasternak, R.L., Seaman, W. Journal of the
American Chemical Society, 1952, vol. 74,
p. 3264.
20. Hrdy, O. Collection of Czechoslovak Chemical Communi-
cations, 1959, vol. 24, p. 1180.

21. Asahi, Y. Review of Polarography (Japan), 1963, vol. 11, p. 176.
22. Крузе, И. В кн.: Первый всесоюзный съезд фармацевтов (Материалы докладов в секциях). М., 1967, с.155.
23. Zuman, P. Progress in Polarography. New York - London, 1962, vol. II, p. 583.
24. Майрановский С.Г., Титов Ф.С. Журнал аналитической химии, 1960, № I, с. 121.

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ КОЛОРИМЕТРИЧЕСКОГО И ПОЛЯРОГРАФИЧЕСКОГО МЕТОДОВ
АНАЛИЗА ФОЛИЕВОЙ КИСЛОТЫ

И. Крузе

Резюме

Разработан полярографический метод определения фолиевой кислоты в поливитаминных препаратах. В качестве фона использовали бура-фосфатный буферный раствор pH 6,8. Потенциал полуволны нормальной кривой витамина B_c $-0,696$ в, производной кривой $-0,710$ в. Определению не мешают присутствующие в витаминных препаратах другие витамины и вспомогательные вещества. Результаты предлагаемого метода сравнивали с данными фотоколориметрического метода. Оба метода дают почти совпадающие результаты; разница не превышает $\pm 2,1\%$. Относительная погрешность полярографического метода от $\pm 2,2$ до $\pm 3,0\%$, фотоколориметрического - от $\pm 2,3$ до $\pm 6,1\%$. Фотометрическое определение витамина B_c в присутствии п-аминобензойной кислоты непроводимо, также высокая концентрация аскорбиновой кислоты препятствует процессу диазотирования.

Предложенный полярографический метод выгодно отличается от колориметрического своей быстротой и простотой анализа.

PÕHITINGIMUSTE UURIMINE PÜRIDOKSOOLHÜDROKLORIIDI POLAROGRAAFILISEKS MÄÄRAMISEKS RAVIMSEGUDES

I. Kruse

Püridoksiini ehk vitamiini B₆ rühma (1) vitamiinide hulka kuuluvad püridoksool, püridoksaal ja püridoksamiin.

Ofitsinaalse preparaadina kasutatakse meditsiinis püridoksoolhüdrokloriidi püridoksiinhüdrokloriidi nimetuse all (2).

Ratsionaalse polarograafilise analüüsi meetodika püridoksoolhüdrokloriidi määramiseks ravimseguades on seni välja töötamata, kuigi juba 1941.a. näitasid J.J. Lingane ja O.L. Davis (3) püridoksooli taanduvust tetraetüülammooniumbromiidilahuse foonil, mis aga praktilist rakendamist ei leidnud. 1950. aastate lõpul hakati uuesti tegelema püridoksiini-grupi vitamiinide polarograafiaga. J. Volke esitas püridoksooli taandusprotsessi kemismi elavhõbe-tilk-elektroodil ning näitas püridoksaali lainekõrguste sõltuvust keskkonna pH-st (4). O. Manoušek ja P. Zuman esitasid meetodid püridoksaali ja püridoksaal-5-fosfaadi koostamääramiseks, mis baseerusid nende ainete erinevatel lainekõrgustel 2- ja 9-lise pH-ga lahustes (5) või poollainepotentsiaalide erinevusel, neid diferentsiaalpolarograafiliselt määrares pärast oksiimideks üleviimist veronaalpuhvril pH = 8,9 (5) või otse integraalselt polarografeerides 0,1 mol. naatriumhüdroksiidilahuse foonil (6).

Analüütilist rakendust on B₆-monovitamiinpreparaatide puhul leidnud püridoksooli polarografeerimise foonide-

na ammoniaak-ammooniumkloriid- ja veronaalpuhver (7) ja nõrgalt happelised puhverlahused (8). Esimesena nimetatud foonil annab püridoksool difusioonilise, teistel katalüütilise laine.

Püridoksiini-grupi vitamiinide ja teiste nende derivaatide elektrokeemilisi protsesse on ulatuslikult käsitletud ja iseloomustatud O. Manoušeki ja P. Zumani töös (9).

Püridoksooli oksüdeerimiseks püridoksaaliks soovitakse mangaandioksiidi (10). Nii saadud püridoksaal (pärast püridoksaaltsüaanhüdriini moodustamist) sobib kvantitatiivseks fluurometriiliseks määramiseks (10).

Kuna püridoksooli otsene määramine ravimsegudes on keemiliste ja füüsikalise-keemiliste analüüsimeetoditega takistatud, siis on uuritud tema eraldamise võimalusi. Nii esitati meetod vitamiini B_6 paberkromatograafiliseks eraldamiseks sellele järgneva polarograafilise määramisega (11). Püridoksool on eraldatud kaasnevatest vitamiinidest kihtkromatograafiliselt silikageeli (12, 13) ja alumiiniumoksiidi (13) kihil.

Ioonvahetuskromatograafiat kasutades eraldati püridoksool mõningatest teistest vitamiinpreparaatides sisalduvaist vitamiinidest: vitamiinidest C (14), B_1 , B_2 , B_{12} , nikotiinamiidist ja pantenoolist (15, 16, 17) ja püridoksiini rühma ülejäänud komponentidest - püridoksaalist ja püridoksamiinist (18). Vitamiini B_6 adsorbeerimiseks ekstraktidest sobib Super Filtrol pärast segavate ainete eraldamist ioonide Amberlite IR-4 abil (19).

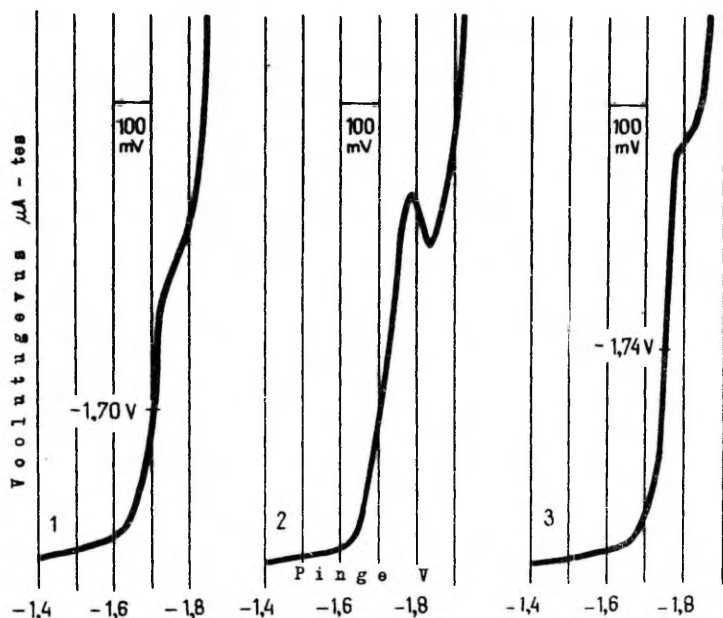
E k s p e r i m e n t a a l n e o s a

Polarograafilistel määramistel kasutatud polarograafi ja raku kirjeldus on toodud eelnevas artiklis "Foolhappe kolorimeetriilise ja polarograafilise analüüsi meetodite võrdlev uurimus". Katoodina kasutati tilkuvat elavhõbe-elektroodi, mille $m=3,37$ mg/s ja $t=1,0$ s.

Püridoksooli polarograafiliseks analüüsiks püüti ra-

kendada O. Manoušeki ja P. Kočová poolt soovitatud meetodit (7), lahustades uuritava vitamiinpreparaadi 0,1 mol. ammoniaak-ammooniumkloriidi puhverlahuses $\text{pH} = 8,6 - 8,7$. Selleks et saada rahuldava piirvooluga taandusainet (joon. 1), tuleb töötada rangelt ettenähtud pH piirkonnas. Lahuse pH suurenemisel liitub piirvoolu osa peagi fooni taandumisest tingitud laine tõusuga. Määramine on läbiviidav püridoksooli monovitaminiinpreparaatide puhul. Nimetatud foonil polarografeerides saadi püridoksiinhüdrokloriidi monovitaminiintablettide ja 1%- , 2,5%- ning 5%-liste ampull-lahuste analüüsil katseveaks $\pm 2,0 - \pm 2,5 \%$ (vitamiini B_6 kontsentratsioon polarografeeritavas lahuses $1 \cdot 10^{-4} - 1 \cdot 10^{-3}$ mol., s. o. ca 0,2 - 2 mg/10 ml). Selles vahemikus on püridoksooli lainekõrgus lineaarses sõltuvuses kontsentratsioonist (joon. 2). Töös (7) toodud väide, et määramine on sel foonil teostatav ka nikotiinamiidi juuresolekul, ei leidnud kinnitust. Kui võrd nikotiinamiid esineb ravimsegudes paljukordselt püridoksooli koguseid ületavates hulkades, kusjuures nikotiinamiidi laine eelneb vahetult püridoksooli omale, siis osutub vitamiini B_6 analüüs klassikaliselt polarografeerides võimatuks ning diferentsiaalpolarograafiliselt tugevasti takistatuks (joon. 3). Samuti segab püridoksooli määramist nikotiinhape.

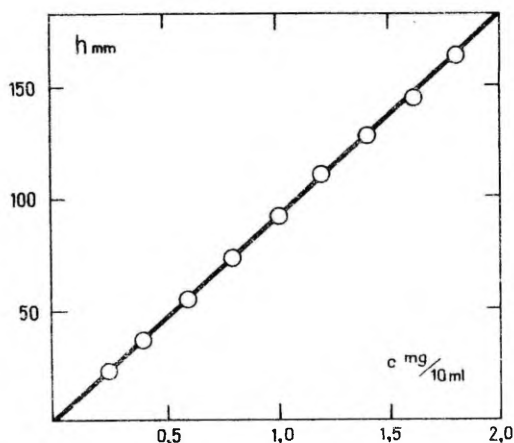
Katsetati ka teisi foone - tsitraat-fosfaatpuhvrit $\text{pH} = 7,2$ ja fosfaatpuhvrit $\text{pH} = 6,8$, milledes püridoksool annab katalüütilise iseloomuga lained (seda tõendab polarografeerimise kõrge tundlikkus, iseloomuliku maksimumiga piirvoolu osa (joon. 1), astme kõrguste sõltumatus elavhõbeda reservuaari kõrgusest või isegi suurenemine reservuaari langetamisel). Kuid nimetatud foonid on rakendatavad vaid püridoksooli monovitaminiinpreparaatide analüüsil, mitte aga polüvitamiinpreparaatide puhul. Vitamiini B_6 laine registreerimist neil foonidel segavad näiteks vitamiinid B_1 , B_2 , B_3 , B_5 , PP-amiid ja PP-hape, ei sega vitamiinid B_2 , B_3 , C, H ja H_1 .



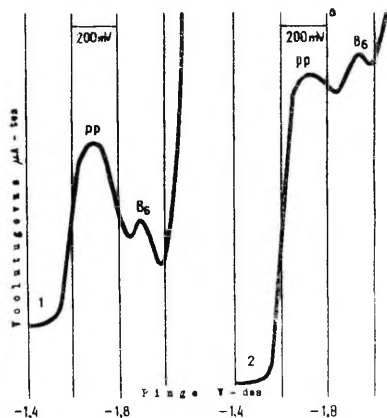
Joon. 1. Püridoksoolhüdrokloriidilahuste polarogrammide.

Laine 1. - 0,4 mg/10 ml 0,1 mol. 8,7 pH-lises ammoniaak-ammooniumkloriidpuhvril, $S = 1/10$, $E_{1/2} = -1,70$ V; laine 2. - 0,2 mg/10 ml 7,2 pH-lises fosfaat-tsitraatpuhvril, $S = 1/100$; laine 3. - 1 mg/10 ml 0,5-g-se naatrium-sulfiti lisandiga 0,4 mol. dinaatriumfosfaadilahuses, $S = 1/50$, $E_{1/2} = -1,74$ V.

Lained registreeritud alates -1,4 V, -100 mV/absts., võrdlusel.- küllastatud kalomelelektrood.



Joon. 2. Lainekõrguse (h) sõltuvus püridoksoolhüdrokloriidi kontsentratsioonist (c) polarografeeritavas lahuses 0,1 mol. 8,7 pH-lise ammoniaak-ammooniumkloriidipuhvri foonil.



Joon. 3. Püridoksoolhüdrokloriidi- + nikotiinamiidilahuse diferentsiaalsed polarogrammid.

Laine 1. - 10 ml 0,1 mol. 8,7 pH-lise ammoniaak-ammooniumkloriidipuhvri + 1 ml 0,1%-lise püridoksoolhüdrokloriidi lahuse + 1 ml 0,1%-lise nikotiinamiidilahuse polarogramm; laine 2. - 10 ml 0,4 mol. dinaatriumfosfaadilahuse + 1 ml 0,1%-lise püridoksoolhüdrokloriidi lahuse + 0,7 ml 0,1%-lise nikotiinamiidilahuse polarogramm.

Lained registreeritud alates -1,4 V, -200 mV/absts., võrdlusel.- küllastatud kalomelelektrood.

Ulatuslikumalt on kasutatav 0,4 mol. dinaatriumfosfaadilahus (pH ca 9,4), mispuhul saadi selge püridoksooli polarograafiline laine (joon. 1). Kuid määramist segab nikotiinhape ja tema amiid. Viimaste juuresolekul saab püridoksooli määrata diferentsiaalpolarograafiliselt (joon.3), kui vitamiini PP kontsentratsioon ei ületa tunduvalt vitamiini B₆ oma.

Ratsionaalseid vitamiinide eraldamise võimalusi polarograafiliseks määramiseks ei saadud ka kihtkromatograafiat ning ioonvahetusvaikusid kasutades.

Kihtkromatograafia puhul silikageeli kihil solventide süsteemis jää-äädikhape/atsetoon/metanool/benseen = 5/5/20/70 saadi hea eralduvus vaid vitamiinide väikeste hulkade pealekandmisel. R_F väärtused: B₁ - 0, B_C - 0,07, B₆ - 0,14, C - 0,27, B₂ - 0,32, PP - 0,60. Et saada polarografeerimiseks pärast elueerimist näiteks ammoniaak-ammooniumkloriid-puhvriga (pH = 8,6 - 8,7) sobiva kontsentratsiooniga lahust, tuleks plaadile kanda 0,2 - 1,0 mg püridoksoolhüdrokloriidi. Kuna uuritava vitamiinpreparaadi lahus on suhteliselt madala kontsentratsiooniga, siis tingib see suure hulga lahuse pealekandmise vajaduse, mis on aga raskesti teostatav. Ka ei saavutatud vitamiinide suuremate koguste pealekandmisel selgepiirilist eralduvust. Takistuseks sai ka asjaolu, et püridoksool kromatografeerimise käigus osaliselt lagunes (eriti valguse käes). Boorhappe lisand küll väldib püridoksooli lagunemist (kompleksi teke (20)), kuid tema juuresolekul saadakse polarografeerimisel madalamad ja halvasti väljendunud püridoksooli taanduslained.

Ioonvahetuskromatograafia puhul püridoksooli eraldamisel kationiite Wofatit CP 300 (pH 5,5), Amberlite XE 100 (pH 4,0) ja anioniiti Wofatit L 150 (OH⁻) kasutades (17), saadi just püridoksooli puhul teoreetilisest 5 % madalamad tulemused. Meetod ise on töömahukas ja aeganõudev. Meetodi lihtsustamine kõiki püridoksooli polarograafilist määramist segavaid komponente - vitamiine PP-amiid, PP-hape, B₁ ja B_C sisaldavate segude puhul ei andnud tulemusi.

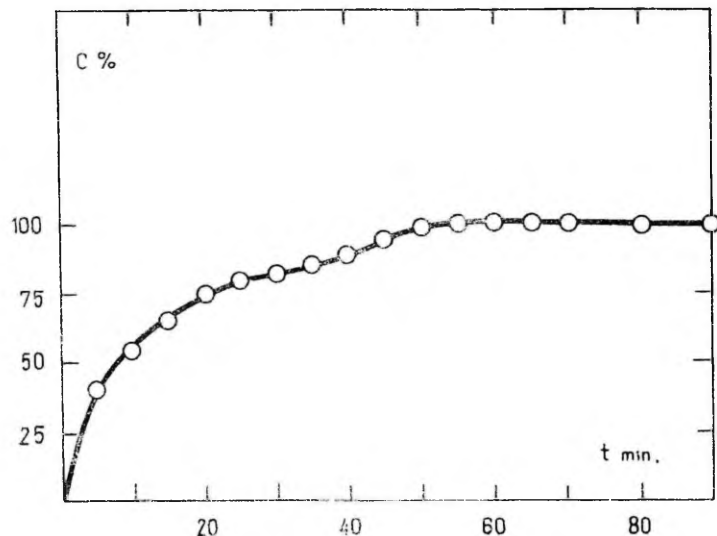
Arvestades ülalõeldut ning tuginedes eelkatsete positiivsetele tulemustele püridoksooli oksüdeerimisel mangaandioksiidiga püridoksaaliks ning selle polarografeerimisel, seatigi ülesandeks uurida püridoksooli püridoksaaliks üleviimise tingimusi eesmärgiga nii teostada tema polarograafilist analüüsi polüvitamiinsegudes. Sobivate tingimuste valikul tuli arvestada keskkonnaga, milles oleks tagatud 1) kvantitatiivne püridoksooli oksüdeerumine püridoksaaliks ja 2) polarograafilise analüüsi läbiviidavus kas vahetult või pärast pH reguleerimist.

Eelkatsed viitasid ca 5,2 pH-lise fosfaat- ja atsetaatpuhvri sobivusele selleks otstarbeks.

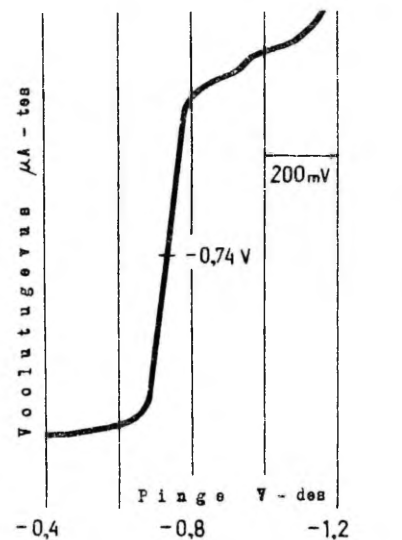
Et selgitada oksüdatsiooniprotsessi kulgu, oksüdeeriti 10^{-3} - 10^{-4} mol. püridoksoolilahuseid erinevate mangaandioksiidi hulkadega erineva pikkusega ajavahemike vältel 1/15 mol. monokaaliumfosfaadilahuses (pH ca 5,2). Erinevate kontsentratsioonidega lahused saadi 0,1%-lise püridoksoolilahuse (firma Chemapol, 100%-line substant) 0,2 - 2,0 ml hulkade lisamisel 10 ml 1/15 mol. monokaaliumfosfaadilahusele. Vett lisati kuni 12 ml-ni ja seejärel 0,05-0,3 g mangaandioksiidi ja loksutati loksutusmasinas erinevate ajavahemike (5 min. - 90 min.) kestel. Seejärel tsentrifuugiti, mangaandioksiidi jäägile lisati 10 ml 1/15 mol. dinaatriumfosfaadilahust, loksutati ja tsentrifuugiti uuesti. Tsentrifugaat ühendati esimese osaga 25-ml mahuga mõõtekolvis ja täiendati veega märgini (saadi 6,8 pH-line lahus).

10 ml saadud lahust viidi rakku, termostateeriti hoolikalt $+25^{\circ}\text{C} \pm 0,1^{\circ}$ juures, juhtides 5 - 10 min. jooksul vesinikku läbi lahuse ja polarografeeriti pingeintervalis -0,5 kuni -1,0 V. Seejärel lisati 0,1%-list püridoksaalhüdrokloriidilahust (firma E. Merck, Darmstadt, 100%-line substant) või selle sellist lahjendust 1 ml, et lainekõrgus umbes kahekordistus, ja arvutati välja moodustunud püridoksaali hulk.

Selgus, et sobivaks mangaandioksiidi hulgaks on 0,2 g ja oksüdatsiooni kestuseks loksutamisel 60 min. (joon. 4).



Joon. 4. Mangaandioksiidiga püridoksooli püridoksaaliks oksüdatsiooni kineetika 1/15 mol. monokaalium-fosfaadilahuses. Abstsisssteljel on märgitud oksüdatsiooni kestus (t) minutites, ordinaatteljel - moodustunud püridoksaali hulk (c)%-des. Püridoksoolhüdrokloriidi kontsentratsioon lahuses 1,0 mg/12 ml, mangaandioksiidi hulk 0,2g.



Joon. 5. 0,8 mg/10 ml kontsentratsiooniga püridoksaalhüdrokloriidi lahuse polarogramm 1/15 mol. 6,8 pH-lise fosfaatpuhvri foonil, $S=1/20$, $E_{1/2} = -0,74$ V. Laine registreeritud alates $-0,4$ V, -200 mV/absts., võrdlusel.- küllastatud kalomel-elektrood.

Neis tingimustes oksüdeeritakse püridoksool kvantitatiivselt püridoksaaliks. Analoomilised tulemused saadi oksüdatsiooni läbiviimisel ja polarografeerimisel atsetaathapuvris pH=5,2 (Walpole). Püridoksaal annab nendel tingimustel selge laine (joon. 5).

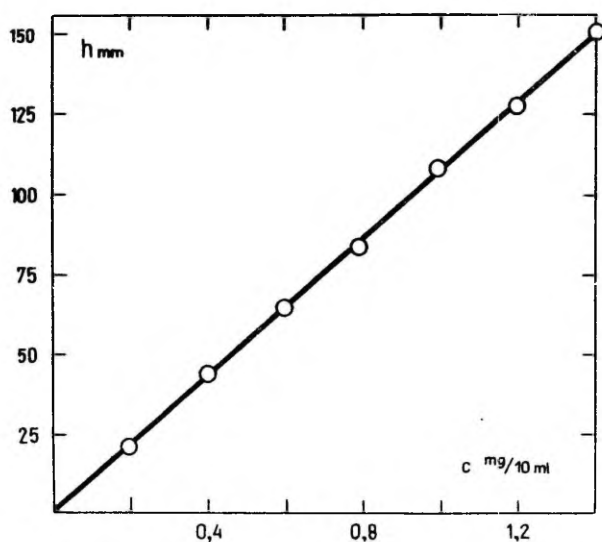
Et selgitada polüvitamiinpreparaatides vitamiiniga B₆ kaasnevate ainete mõju püridoksooli oksüdeerumisele ja polarografeerimisele, lisati neid ükshaaval ning oksüdeeriti ja polarografeeriti. Selgus, et püridoksooli oksüdatsiooni ei takista tiamiinbromiid, riboflaviin, kaltsiumpantotenaat, tsüanokoobalamiin, biotiin, rutiin, nikotiinhape ja tema amiid ning abained (glükoos, laktoos, sahharoos jt.). Samuti ei saa segada akseroftool, kaltsiferool ja tokoferool, sest need eemaldatakse lahusest filtrimisel enne mangaandioksiidi lisamist. Foolhape lahustub lahuses pH = 5,2 niivõrd tühistes kogustes, et ta samuti ei sega määramist, kuigi vitamiini B₆ laine vahetult eelneb püridoksaalile.

Püridoksooli oksüdeerimist mangaandioksiidiga takistab askorbiinhape kui tugev redutseerija, mistõttu see tuleb eelnevalt oksüdeerida, näiteks kaaliumpermanganaadilahusega. Kuna kaaliumpermanganaadi taandumisel tekib kahevalentne mangaanioon reageerib fosfaathapuvriga, andes lahustumatu mangaanfosfaadi, siis askorbiinhappe esinemisel kasutati fosfaathapuvri asemel atsetaathapuvrit pH = 5,2. Askorbiinhappe oksüdeerimiseks lisati tilkhaaval 1%-list kaaliumpermanganaadilahust kuni violetse värvuse ilmnemiseni, seejärel 0,2 g mangaandioksiidi ja edasi nagu eespool kirjeldatud, kasutades polarografeerimiseks lahust pH-ga 5,2.

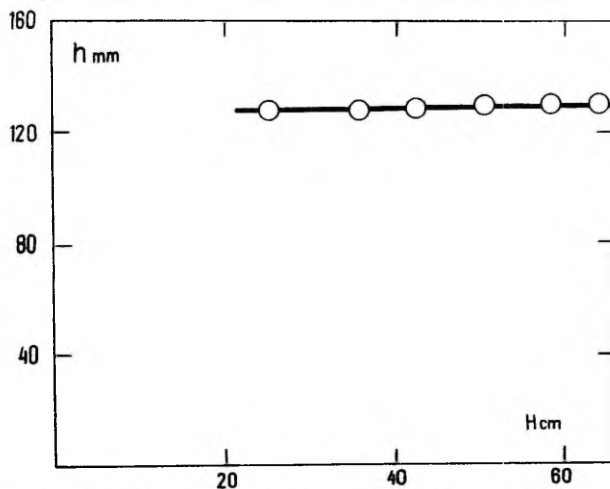
Analüütilise meetodi väljatöötamise eesmärgil kontrolliti püridoksaali elektrokeemilist käitumist nimetatud tingimustel.

Selgus, et püridoksaali kontsentratsiooni ja lainekõrguste vahel valitseb lineaarne sõltuvus 10^{-3} - 10^{-4} mol. lahustes (joon. 6).

Püridoksaali lainekõrguse ja elavhõbeda rõhu vahelise sõltuvuse uurimisel ilmnas, et lainekõrgus ei sõltu elavhõbeda rõhust (joon. 7).



Joon. 6. Lainekõrguse (h) sõltuvus püridoksaalhüdrokloriidi kontsentratsioonist (c) polarografeeritavas lahuses 6,8 pH-lise fosfaatpuhvri foonil, $S = 1/20$.

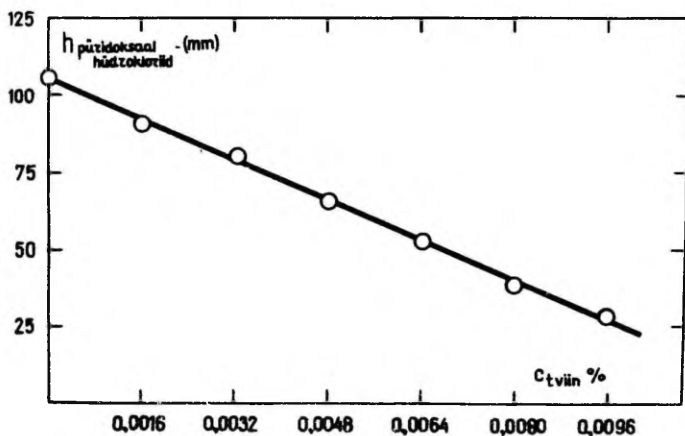


Joon. 7. Püridoksaalhüdrokloriidilahuse lainekõrguse (h) sõltuvus elavhõbereservuaari kõrgusest (H) 6,8 pH-lise fosfaatpuhvri foonil.

Püridoksaali lainekõrguse sõltuvust temperatuurist kontrolliti temperatuurintervallis $+18^{\circ}$ kuni $+30^{\circ}$ C. Selgus, et lainekõrguse sõltuvus temperatuurist on ulatuslik. Temperatuuri koefitsient ($\omega = \frac{1}{I} \cdot \frac{dI}{dt}$) võrdub 8 %, s. o. voolutugevus 1 suureneb 8 % temperatuuri tõstmisel 1° võrra. Seega selleks, et temperatuurist tingitud katsevigade ei ületaks 1 %, tuleb määramised läbi viia samal temperatuuril $\pm 0,1^{\circ}$ -se täpsusega katse temperatuuri ultratermostaadi abil hoides.

Samuti täheldati püridoksaali lainekõrguse sõltuvust lahuse pH-st ja fooni koostisest ning kontsentratsioonist. Ka ilmnas lainekõrguse alanemine mõningate ainete (näit. riboflaviini, tviin 80 jt.) mõjul (joon. 8).

Toodud andmetest järeldub püridoksaali taandusvoolu kineetiline iseloom.



Joon. 8. 1 mg/10 ml kontsentratsiooniga püridoksaalhüdrokloriidilahuse lainekõrguse (h) sõltuvus tviin 80 kontsentratsioonist (Ctviin) polarografeeritavas lahuses 6,8 pH-lise fosfaatpuhvri foonil, $S=1/20$.

J ä r e l d u s e d

1. Nii ammoniaak-ammooniumkloriid- ($\text{pH} = 8,7$), tsit-
raat-fosfaat- ($\text{pH} = 7,2$) ja fosfaatpuhvril ($\text{pH} = 6,8$) kui
ka 0,4 mol. dinaatriumfosfaadilahuses ei õnnestunud püri-
doksooli kvantitatiivseks määramiseks ravimsegudes ratsio-
naalset polarograafilist meetodit leida. Samuti ei saadud
rahuldavaid tulemusi vitamiini B_6 eraldamisel polarograa-
filise määramise otstarbeks ioonvahetus- ja kihtkromato-
graafilisel meetodil.

2. Töötati välja metoodika püridoksooli kvantitatiiv-
seks oksüdeerimiseks mangaandioksiidiga püridoksaaliks ja
selgitati polüvitamiinpreparaatide vitamiiniga B_6 kaasne-
vate ainete mõju sellele oksüdatsioonireaktsioonile.

3. Selgitati püridoksaali polarografeerimise tingimu-
si fosfaat- ($\text{pH} = 6,8$) ja atsetaathuvris ($\text{pH} = 5,2$).

K i r j a n d u s

1. Березовский В.М. Химия витаминов. Москва, 1959,
стр. 367.
2. Государственная Фармакопея СССР, IX изд. Москва,
1961.
3. Lingane, J.J., Davis, O.L. J. Biol. Chem., 1941, vol.
137, p. 567.
4. Volke, J. Z. physik. Chem. Sonderheft 1958, S. 268.
5. Manoušek, O., Zuman, P. J. Electroanalyt. Chem.,
1959/60, vol. 1, p. 324.
6. Idem. Coll. Czechoslov. Chemic. Commun., 1962, vol. 27,
p. 486.

7. Manoušek, O., Kočová, P. *Microchim. acta*, 1961, N^o 5, S. 754.
8. Knobloch, E. *Physikalisch-chemische Vitaminbestimmungsmethoden*, Berlin, 1963, S. 307.
9. Manoušek, O., Zuman, P. *Coll. Czechoslov. Chemic. Commun.*, 1964, vol. 29, p. 1432.
10. Polansky, M.M., Camarra, R.T., Toepfer, E.W. *Journal of the Association of Official Agricultural Chemists*, 1964, vol. 47, p. 827.
11. Cerny, K. *Sbornik 1st celostátní pracovní konf. anal. chemiku*. Prague, 1952, str. 279 ref.:
Březina, M., Zuman, P. *Polarography in Medicine, Biochemistry and Pharmacy*, New York, 1958, p. 401.
12. Gänshirt, H., Malzacher, A. *Die Naturwissenschaften*, 1960, B. 47, S. 279.
13. Ishikawa, S., Katsui, G. *Vitamins*, 1964, vol. 29, p. 203.
14. Jindra, A. *Českoslov. farm.*, 1959, vol. 8, str. 15.
15. Klotz, L., Poethke, W. *Pharmaz. Zentralhalle*, 1964, B. 103, S. 1.
16. Idem. *Ibid.*, S. 169.
17. Idem. *Ibid.*, S. 255.
18. Hedin, P.A. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1963, vol. 11, p. 343.
19. Brown, E.B., Bina, A.F., Thomas, J.M. *J. Biol. Chem.*, 1945, vol. 158, p. 455.
20. Scudi, J.V., Bastedo, W.A., Webb, T.I. *Ibid.*, 1940, vol. 136, p. 399.

Исследование основных условий для полярно-графического определения пиридоксола гидрохлорида в лекарственных смесях

И. Крузе

Резюме

1. На фоне аммиачного буферного раствора pH 8,7, цитратно-фосфатного pH 7,2, фосфатного pH 6,8 и 0,4 M раствора натрия фосфата двузамещенного не удалось разработать рациональную методику для количественного полярнографического определения пиридоксола в лекарственных смесях. Также не давало удовлетворительных результатов комбинирование полярнографического метода с ионообменной и тонкослойной хроматографией.

2. Разработана методика для количественного окисления пиридоксола в пиридоксаль двуокисью марганца в 1/15 M растворе калия фосфата однозамещенного или в ацетатном буферном растворе pH 5,2.

3. На фоне фосфатного буферного раствора pH 6,8 пиридоксаль дает волну восстановления кинетического характера с потенциалом полуволны - 0,74 в. Полярнографическому определению не мешают витамины А, Е, D, B₁, B₂, B₃, B₁₂, С, Н, Р, РР.

КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ПОЛЯРОГРАФИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ
В ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТАХ ПИРИДОКСОЛА
ГИДРОХЛОРИДА ПОСЛЕ ЕГО ОКИСЛЕНИЯ В ПИРИДОКСАЛЬ

И.Крузе

На основе результатов, полученных в предыдущей работе "Исследование основных условий полярографического определения пиридоксола гидрохлорида в лекарственных препаратах", была разработана методика количественного полярографического определения пиридоксола гидрохлорида в лекарственных смесях. Поскольку пиридоксаль дает волну кинетического характера, высота которой зависит от pH раствора, состава и концентрации фона, то для вычисления результатов нельзя пользоваться калибровочной кривой. Но так как между высотой волны и концентрацией пиридоксаля имеется прямолинейная зависимость, несмотря на изменение вышеперечисленных факторов фона (см.рис.1), содержание пиридоксола в лекарственных препаратах можно вычислить по методу добавок.

Для полярографических определений использовали тот же полярограф, ячейку и капельный ртутный катод, которые описывались в предыдущей статье. Все определения проводились в тщательно термостатированных растворах с постоянной температурой $+ 25^{\circ}\text{C} \pm 0,1^{\circ}\text{C}$.

Методика

Необходимые реактивы:

1. Стандартный 0,1% раствор пиридоксаля гидрохлорида.
2. 1/15 М растворы калия фосфата однозамещенного и натрия фосфата двузамещенного (I).
3. 0,2 М ацетатный буферный раствор (Walpole) pH=5,2 (2).
4. 1% раствор перманганата калия.

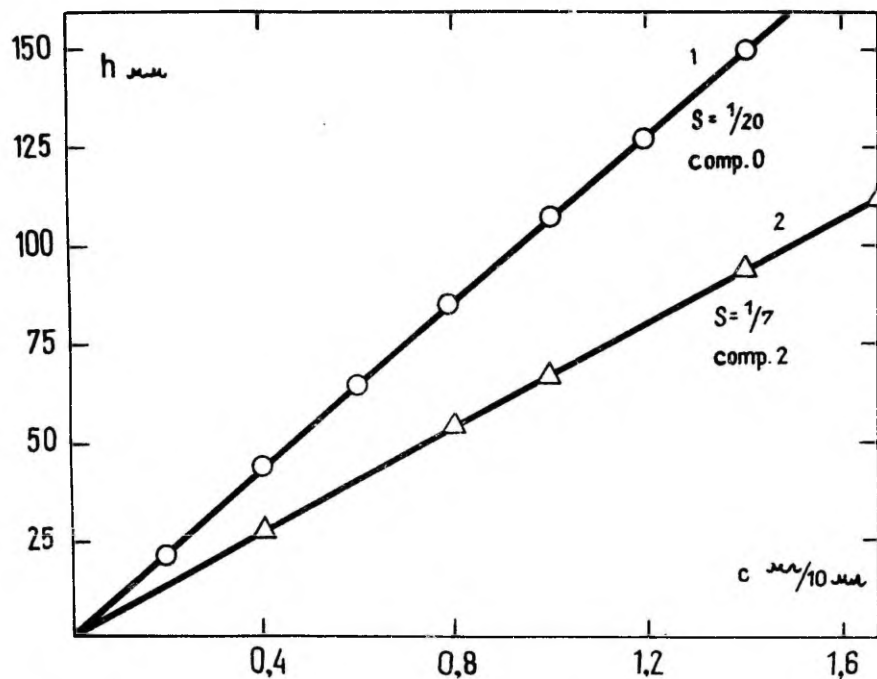


Рис. I.

Зависимость высоты волны (h) от концентрации (c) пиридоксала гидрохлорида в I/I5 M фосфатном буфере pH = 6,8. I - растворы моновитаминного препарата, 2 - растворы поливитаминного препарата № 2 (см. табл. I).

5. Двуокись марганца. Приготавливается по прописи O. Mancetta et al. (3).

15 г сульфата марганца растворяют в 200 мл воды, нагревают до 90°C и при постоянном перемешивании прибавляют насыщенный раствор перманганата калия (приблизительно 15 г перманганата калия) до небольшого излишка. Взбалтывают при 90°C в течение 15 минут, охлаждают и фильтруют через фильтр-нунтч. Осадок промывают горячей водой до тех пор, пока фильтрат не становится бесцветным, и метиловым спиртом (приблизительно 300 мл) и высушивают до постоянного веса при 50°C.

Из тщательно растертой пробы испытуемого образца берут навеску и растворяют в стаканчике при взбалтывании в течение 5-8 минут в 1/15 М растворе калия фосфата однозамещенного (рН раствора приблизительно 5,2). Раствор при надобности фильтруют через небольшой фильтр в мерную колбу подходящей емкости (не менее 50 мл), чтобы в полученном растворе содержалось 1,0 - 2,0 мг пиридоксола гидрохлорида в 10 мл. Остаток в стаканчике и на фильтре обрабатывают двукратно по 5 мл 1/15 М раствора калия фосфата однозамещенного и фильтруют в ту же мерную колбу. Проверяют рН полученного раствора и при необходимости доводят его опять до рН 5,2 0,1 н. раствором соляной кислоты или гидроокиси калия, объем раствора доводят раствором калия фосфата однозамещенного до метки и перемешивают.

После этого 10 мл приготовленного раствора помещают в колбу емкостью 50 мл, прибавляют 0,2 двуокиси марганца и взбалтывают с помощью машины в течение 60 минут. Затем раствор центрифугируется. Центрифугат переводят в мерную колбу емкостью 25 мл. Остаток в колбе обрабатывают 10 мл 1/15 М раствором натрия фосфата двузамещенного и добавляют к остатку двуокиси марганца, взбалтывают и вновь центрифугируют. Полученный центрифугат присоединяют к первому в мерной колбе и доводят объем раствора водой до метки, а затем перемешивают.

10 мл полученного раствора переносят в ячейку и полярографируют в интервале от -0,5 в до -1,0 в, предварительно

пропустив через раствор водород в течение 10 минут, поддерживая температуру ультратермостатом $+ 25^{\circ}\text{C} \pm 0,1^{\circ}\text{C}$.

Затем к раствору в ячейке добавляют такое количество стандартного 0,1% раствора пиридоксала гидрохлорида (примерно 0,4 - 1,0 мл), чтобы высота волны получилась примерно вдвое больше первоначальной.

Содержание пиридоксала гидрохлорида в лекарственных формах вычисляется по формуле:

$$x = \frac{c_{\text{см}}}{\frac{h}{h_x} \cdot \frac{v_x + v_{\text{см}}}{v_{\text{см}}} - \frac{v_x}{v_{\text{см}}}} \cdot \frac{v \cdot 25 \cdot d \cdot 1,01}{10 \cdot a},$$

где x - содержание пиридоксала гидрохлорида в I драже, таблетке, порошке (в мг); $c_{\text{см}}$ - концентрация стандартного раствора (в мг/мл); h - высота волны после добавления стандартного раствора (в мм); h_x - высота волны исследуемого раствора (в мм); v - объем первого разведения (в мл); v_x - объем исследуемого раствора в ячейке (в мл); $v_{\text{см}}$ - объем стандартного раствора (в мл); 25 - объем второго разведения (в мл); 10 - количество раствора первого разведения, взятое на окисление (в мл); d - средний вес I драже, таблетки, порошка (в г); a - навеска (в г); 1,01 - коэффициент пересчета пиридоксала гидрохлорида на пиридоксол гидрохлорид (отношение молекулярного веса пиридоксала гидрохлорида к молекулярному весу пиридоксала гидрохлорида).

Если присутствует аскорбиновая кислота, то препарат растворяют вместо раствора калия фосфата однозамещенного в 0,2 М ацетатном буфере pH 5,2 и витамин С предварительно окисляют, добавляя по каплям 1% раствор перманганата калия до появления слабофиолетового окрашивания, проверяют pH раст-

вора и при необходимости доводят вновь до pH 5,2, прибавляют 0,2 г двуокиси марганца и далее поступают как описано выше. Объем раствора доводят ацетатным буфером до метки и полученный раствор с pH 5,2 полярографируют.

Для выяснения воспроизводимости предложенного метода к растворам витаминных препаратов разного состава прибавляли 2 мл 0,1% раствора пиридоксола гидрохлорида и определяли его содержание, используя вышеизложенную методику. Результаты приведены в табл. I, из которой следует, что полярографический метод определения дает воспроизводимые результаты с относительной погрешностью от $\pm 1,64\%$ до $\pm 3,13\%$ (разница от теоретического содержания от $+ 2,3\%$ до $- 0,4\%$).

Результаты количественного определения пиридоксола гидрохлорида в витаминных препаратах приведены в табл. 2. Как следует из табл. 2, относительная погрешность составляет от $\pm 1,82\%$ до $\pm 3,22\%$.

Выводы

1. Разработано полярографическое определение пиридоксола на основе его окисления двуокисью марганца в пиридоксаль в фосфатном или ацетатном буферном растворе pH 5,2.

2. Определения пиридоксола гидрохлорида можно производить как в чистом препарате, так и в моно- и поливитаминных препаратах. Относительная погрешность метода не превышает $\pm 3,2\%$.

Литература

1. Справочник химика, т. II, изд. "химия", М.-Л., 1965, с. 171
2. Schwabe, K. Fortschritte der pH Messtechnik. Berlin, 1958, S. 252.
3. Mancera, O. et al. J. Chem. Soc., 1953, p. 2189.

Таблица I

Результаты количественного определения добавок
пиридоксола гидрохлорида к раствору поливитаминовых препаратов

№ пп	Состав препарата (в г)	Внесе- но	Найдено		\bar{x}	S	$S_{\bar{x}}$	ε_{α}	$\varepsilon_{отн. \%}$
			пиридоксола гидрохлорида						
		мг	мг	%					
I.	Аксерофтол 1650 ME Токоферол 0,01 Никотиновая кислота 0,04 Кальция пантотенат 0,01 Биотин 0,001 Глюкоза 0,1	2	2,06 2,05 2,08 2,03 2,01	103,0 102,5 104,0 101,5 100,5	102,3	1,351	0,604	1,68	1,64
2.	Тиамин-бромид 0,005 Рибофлавин 0,005 Никотинамид 0,05 Фолиевая кислота 0,002 Цианокобаламин 0,00005 Сахар 0,1	2	1,99 1,92 2,01 2,06 2,00	99,5 96,0 100,5 103,0 100,0	99,8	2,515	1,125	3,12	3,13
3.	Аскорбиновая кислота 0,05 Лактоза 0,2	2	2,03 2,04 1,95 2,04 1,98	101,5 102,0 97,5 102,0 99,0	100,4	2,043	0,914	2,54	2,53
4.	Рибофлавин 0,002 Фолиевая кислота 0,001 Рутин 0,02 Никотиновая кислота 0,05 Глюкоза 0,1	2	1,97 2,00 1,98 2,05 1,96	98,5 100,0 99,0 102,5 98,0	99,6	1,782	0,797	2,21	2,22

Результаты количественного определения пиридоксола гидро-
хлорида в витаминных препаратах

Таблица 2

№ пп	Состав препарата в г	Найдено пиридоксола гидрохлорида		\bar{x}	S	$S_{\bar{x}}$	ϵ_{α}	$\epsilon_{отн. \%}$
		г	%					
1.	Пиридоксол гидрохлорид 0,002 Сахар 0,2	0,00196 0,00197 0,00202 0,00201 0,00198	98,0 98,5 101,0 100,5 99,0	99,5	1,458	0,652	1,81	1,82
2.	Пиридоксол гидрохлорид 0,002 Тиамин-бромид 0,003 Рибофлавин 0,003 Биотин 0,001 Лактоза 0,1	0,00205 0,00195 0,00202 0,00194 0,00197	102,5 97,5 101,0 97,0 98,5	99,3	2,361	1,056	2,93	2,95
3.	Витамин В комплекс Витамин B ₆ 0,005 Витамин A 1650 ME Витамин B ₁ 0,005 Витамин B ₂ 0,005 Витамин PP 0,05 Кальция пантотенат 0,01	0,00528 0,00496 0,00508 0,00518 0,00508 0,00484	105,6 99,2 101,6 103,6 101,6 96,8	101,4	3,116	1,270	3,27	3,22
4.	Драже Витамин B ₆ 0,002 Витамин A 0,0015 Витамин B ₁ 0,002 Витамин B ₂ 0,002 Витамин C 0,07 Витамин PP 0,015	0,00195 0,00202 0,00194 0,00197 0,00196	97,5 101,0 97,0 98,5 98,0	98,4	1,558	0,697	1,93	1,97

PÜRIDOKSOOLHÜDROKLORIIDI KVANTITATIIVNE POLAROGRAAFILINE
MÄÄRAMINE FARMATSEUTILISTES PREPARAATIDES PÄRAST TEMA
OKSÜDEERIMIST PÜRIDOKSAALIKS

I. Kruse

R e s ü m e e

Töötati välja püridoksooli määramise kaudne polarograafiline meetod, mis baseerub püridoksooli kvantitatiivsel oksüdeerimisel 5,2 pH-lises lahuses mangaandioksiidiga püridoksaaliks ja selle kineetilise iseloomuga laine registreerimisel. Püridoksooli määramine on teostatav nii mono- kui ka polüvitamiinpreparaatides. Meetodi suhteline viga ei ületa $\pm 3,2\%$.

СОДЕРЖАНИЕ - SISUKORD

<u>Таммару И.</u>	О влиянии микроэлементов на динамику роста, урожай и содержание алколоидов в дурмане обыкновенном <i>Datura stramonium</i> L. в связи с известкованием кислой почвы	3
<u>Tammaru, I.</u>	Mikroelementide mõjust okasõuna <i>Datura stramonium</i> L. kasvudünaamikale, saagile ja alkaloididesisaldusele seoses happelise mulla lupjamisega. (Resümee)	18
<u>Таммару И.</u>	О влиянии микроэлементов на динамику роста, урожай и содержание алколоидов в листьях дурмана обыкновенного <i>Datura stramonium</i> L. при недостатке кальция в почве	19
<u>Tammaru, I.</u>	Mikroelementide mõjust okasõuna <i>Datura stramonium</i> L. kasvudünaamikale, saagile ja lehtede alkaloididesisaldusele kaltsiumivaeses mullas. (Resümee)	27
<u>Таммару И.</u>	О влиянии известкования на динамику роста, урожай и содержание алколоидов в дурмане обыкновенном <i>Datura stramonium</i> L. на фоне разных форм азота	28
<u>Tammaru, I.</u>	Lupjamise mõjust okasõuna <i>Datura stramonium</i> L. kasvudünaamikale, saagile ja alkaloididesisaldusele erineva lämmastiku foonil. (Resümee)	40
<u>Koppel, V.</u>	Proliini kvantitatiivsest paberchromatograafilisest määramisest	41
<u>Коппель В.</u>	О количественном определении пролина методом хроматографии на бумаге (Резюме)	46
<u>Koppel, V., Elmelo, J.</u>	Meetod C^{14} radioaktiivsuse määramiseks paberchromatogrammidel	47

<u>Коппель В., Эльмело И.</u>	Метод определения радиоактивности C^{14} на бумажных хроматограммах (Резюме) ...	52
<u>Koppel, V.</u>	Radioaktiivse süsiniku assimileerimisest okasõuna lehtedes fotosünteesil	53
<u>Коппель В.</u>	Об ассимиляции радиоактивного углерода в листьях дурмана при фотосинтезе. (Резюме)	61
<u>Koppel, V.</u>	Tropanalkaloidide moodustumisest juurtest eraldatud okasõunas	63
<u>Коппель В.</u>	Об образовании тропановых алколоидов в дурмане, отделенном от корней. (Резюме)	70
<u>Jürisson, S.</u>	Hiirekõrva Capsella bursa-pastoris (L.) Med. toimeaine määramine	71
<u>Юриссон С.</u>	Установление действующих веществ пастушьей сумки Capsella bursa-pastoris (L.) Med. (Резюме)	78
<u>Вейдерпасс Н., Кирш Л., Кейх Э., Пяябо Р., Ребане Э., Рудль Э.</u>	Приготовление водных извлечений при помощи turbo- или вихревой экстракции	80
<u>Veiderpass, N., Kirsch, L., Keich, E., Pääbo, R., Rebane, E., Rull, E.</u>	Vesiväljatõmmatiste valmistamine turbo- ehk keerisekstraktsioonil. (Resümee)	91
<u>Вейдерпасс Н., Кирш Л., Каск Э., Киккас Э., Саар Т., Вомм Э.</u>	О возможностях использования эстонских глин в фармацевтической практике	92
<u>Veiderpass, N., Kirsch, L., Kask, E., Kikkas, E., Saar, T., Vomm, E.</u>	Esti NSV savide kasutatavus farmaatsias. (Resümee)	100
<u>Hansen, V., Luik, B., Puiis, H.</u>	Naatrium-paraaminosalit-sülaadi kvantitatiivsest määramisest	101
<u>Хансен В., Луйк Б., Пуйс Х.</u>	Количественный анализ натрия пара-аминосалицилата. (Резюме)	115

- Крузе И., Кикас А., Планк Р., Хинрикус Т. Сравнительное изучение методов расщепления фолиевой кислоты в пара-аминобензойную кислоту 116
- Kruse, I., Kikas, A., Plank, R., Hinrikus, T. Foolhappe p-aminobensoehappeks lagundamise erinevate meetodite võrdlev uurimus. (Resümee) 127
- Kruse, I. Foolhappe kolorimeetrilise ja polarograafilise analüüsi meetodite võrdlev uurimus. 129
- Крузе И. Сравнительное исследование колориметрического и полярографического методов анализа фолиевой кислоты. (Резюме) 142
- Kruse, I. Põhitingimuste uurimine püridoksoolhüdrokloriidi polarograafiliseks määramiseks ravimsegudes 143
- Крузе И. Исследование основных условий для полярографического определения пиридоксола гидрохлорида в лекарственных смесях. (Резюме) 156
- Крузе И. Количественное полярографическое определение в фармацевтических препаратах пиридоксола гидрохлорида после его окисления в пиридоксаль 157
- Kruse, I. Püridoksoolhüdrokloriidi kvantitatiivne polarograafiline määramine farmatseutelistes preparaatides pärast tema oksüdeerimist püridoksaaliks. (Resümee)..... 164

ТРУДЫ ПО МЕДИЦИНЕ

На русском и эстонском языках

Тартуский государственный университет

СССР, г. Тарту, ул. Кингсепи, 18

Vastutav toimetaja I. Kruse

Korrektorid M. Raima ja M. Täikalova

=====

TÜO reprints 1971. Paljundamiseks antud 5. III 1971.
Trükipöögnaid 10,5 + 1,38 lisasid. Arvestuspöögnaid 7,8.
Trükiarv 350. Paber 30x45.1/4. MB 00325. Tell. nr. 166.

Kind 65 kop.

РЕФЕРАТЫ СТАТЕЙ,
ОПУБЛИКОВАННЫХ В ДАННОМ СБОРНИКЕ

УДК 615.322: 582.951.4] : 631.81.095.337

О ВЛИЯНИИ МИКРОЭЛЕМЕНТОВ НА ДИНАМИКУ РОСТА,
УРОЖАЙ И СОДЕРЖАНИЕ АЛКАЛОИДОВ В ДУРМАНЕ
ОБЫКНОВЕННОМ *Datura stramonium* L. В СВЯЗИ
С ИЗВЕСТКОВАНИЕМ КИСЛОЙ ПОЧВЫ

И.Таммару

В условиях вегетационных опытов изучалось влияние микроэлементов на динамику роста, урожай и содержание алкалоидов в дурмане обыкновенном *Datura stramonium* L. в связи с известкованием кислой почвы. Почва: средне-подзолистый суглинок, $pH_{КСГ}=4,50$.

Было установлено, что микроэлементы бор, кобальт, марганец и молибден повышают всхожесть семян дурмана, ускоряют динамику роста и повышают урожай всех органов дурмана. Известь уменьшает действие названных микроэлементов на рост и урожай дурмана.

Микроэлементы бор, марганец, кобальт и молибден повышают содержание алкалоидов в % в дурмане. Под влиянием извести действие бора, марганца, кобальта и молибдена на образование алкалоидов в дурмане уменьшается.

Таблиц 7, библиогр. 10 названий.

О ВЛИЯНИИ МИКРОЭЛЕМЕНТОВ НА ДИНАМИКУ РОСТА,
УРОЖАЙ И СОДЕРЖАНИЕ АЛКАЛОИДОВ В ЛИСТЬЯХ
ДУРМАНА ОБЫКНОВЕННОГО *Datura stramonium* L.
ПРИ НЕДОСТАТКЕ КАЛЬЦИЯ В ПОЧВЕ

И. Таммару

В условиях вегетационных опытов изучалось влияние микроэлементов бора, марганца, кобальта и молибдена на динамику роста, урожай и содержание алкалоидов в листьях дурмана обыкновенного *Datura stramonium* L. при недостатке кальция в почве.

Опыт был заложен на фоне кислой известкованной и известкованной почве, уже использованных для выращивания дурмана. Почва: среднеподзолистый суглинок, $pH_{KCl} = 4,50$.

Было установлено, что действие микроэлементов бора, марганца, кобальта и молибдена на дурман сильно зависит от содержания кальция в почве. При недостатке кальция в почве бор может действовать токсически: замедлить рост и уменьшить урожай дурмана, под влиянием марганца урожай дурмана может не повышаться, содержание алкалоидов в % в листьях может не повышаться под влиянием микроэлементов.

Таблиц 4, библиогр. 2 названия.

О ВЛИЯНИИ ИЗВЕСТКОВАНИЯ НА ДИНАМИКУ РОСТА,
УРОЖАЙ И СОДЕРЖАНИЕ АЛКАЛОИДОВ В ДУРМАНЕ
ОБЫКНОВЕННОМ *Datura stramonium* L. НА ФОНЕ
РАЗНЫХ ФОРМ АЗОТА

И. Таммару

В условиях вегетационных опытов изучалось влияние известкования на динамику роста, урожай и содержание алкалоидов в дурмане обыкновенном *Datura stramonium* L. на фоне нитратного и аммиачного азота. Почва: среднеподзолистый суглинок, $pH_{KCl} = 4,75$.

Было установлено, что известкование кислой почвы не ускоряет динамику роста дурмана до фазы образования плодов ни на фоне нитратного, ни на фоне аммиачного азота. Начиная с фазы образования плодов, известие заметно ускоряет рост дурмана на фоне нитратного азота. На фоне аммиачного азота рост дурмана начинает ускоряться в фазе созревания плодов. Рост растений на фоне нитратного азота больше, чем на фоне аммиачного азота.

Известкование кислой почвы повышает урожай всех органов дурмана на фоне нитратного азота больше, чем на фоне аммиачного азота. Наибольший эффект дала доза известия 25% по гидр.-кислотности почвы (Н). Наибольшее повышение содержания алкалоидов в % во всех органах дурмана, кроме корней на фоне аммиачного азота, дает известь в дозе 25% Н на обеих фаз. Содержание алкалоидов в % на фоне нитратного азота заметно больше, чем на фоне аммиачного азота.

Таблиц 6, библиогр. 3 названия.

УДК 547.747.074 : 543.544.42

О КОЛИЧЕСТВЕННОМ ОПРЕДЕЛЕНИИ ПРОЛИНА
МЕТОДОМ ХРОМАТОГРАФИИ НА БУМАГЕ

В.Коппель

Исследовалось количественное фотоэлектроколориметрическое определение пролина в элюатах бумажных хроматограмм, проявленных изатинном.

Было установлено, что при элюции бумажных хроматограмм смесью из фенола и пиридина (0,6 : 1,4), насыщенных водой, синее окрашивание элюатов в среднем в 2 раза устойчивее, чем при элюции без примеси пиридина. Элюировать следует в темноте в течение 30 минут, время от времени взбалтывая. Точность метода $\pm 2\%$.

Таблиц I, библиогр. 7 названий.

УДК 543.544.42 : 539.163

МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ РАДИОАКТИВНОСТИ C^{14} НА
БУМАЖНЫХ ХРОМАТОГРАММАХ

В.Коппель, И.Эльмело

Предлагается новый метод определения радиоактивности C^{14} на бумажных хроматограммах с двух сторон хроматограммы при помощи двух счетчиков импульсов. Метод является в среднем на 80% более эффективным, чем счет импульсов препаратов, приготовленных из элюатов хроматограммы.

Рис. I, таблиц I, библиогр. 10 названий.

ОБ АССИМИЛЯЦИИ РАДИОАКТИВНОГО УГЛЕРОДА
В ЛИСТЬЯХ ДУРМАНА ПРИ ФОТОСИНТЕЗЕ

В. Коппель

Исследовалось интенсивность ассимиляции радиоактивного углерода C^{14} в листьях дурмана, у которого были удалены цветы. Было установлено, что дурман ассимилирует $C^{14}O_2$ при фотосинтезе почти полностью в течение 5-6 часов и гликоза приобретает за это время максимальную радиоактивность. Радиоактивность гликозы постепенно уменьшается и через 17 суток составляет только 7-8% от начальной радиоактивности.

Свободные аминокислоты лейцин, валин, пролин, глутаминовая кислота и аспарагиновая кислота приобретают максимальную радиоактивность через 8-9 суток после ассимиляции радиоактивного углерода при фотосинтезе, а лизин через 4-5 суток. Из свободных аминокислот максимальную радиоактивность приобретает пролин.

Таблиц I, библиогр. 24 названия.

УДК 582.951.4 - II3 : 547.94

ОБ ОБРАЗОВАНИИ ТРОПАНОВЫХ АЛКАЛОИДОВ
В ДУРМАНЕ, ОТДЕЛЕННОМ ОТ КОРНЕЙ

В.Коппель

При помощи радиоактивного углерода C^{14} исследовался биосинтез гиосциамина и скополамина в дурмане, у которого были удалены корни.

Было установлено, что в начале фазы цветения образуется в среднем 62,3% от суммы алкалоидов в наземных частях дурмана. Гиосциамин образуется в начале фазы цветения главным образом в корнях, а скополамин в наземных частях дурмана.

Таблиц 1, библиогр. 17 названий.

УДК 615.767-011:577.164.18

УСТАНОВЛЕНИЕ ДЕЙСТВУЮЩИХ ВЕЩЕСТВ ПАСТУШЬЕЙ
СУМКИ CAPSELLA BURSA-PASTORIS (L.) MED.

С.Криссон

Изучали содержание действующих веществ пастушьей сумки. Выяснилось, что в траве пастушьей сумки содержание холина больше всего в первом вегетационном периоде до распускания цветов. Кроме того, идентифицировали гистамин и биологически активные вещества. Изучение показало, что эти вещества содержали азот (по реакции с берлинской лазурью) и давали положительные реакции с алкалоидными реактивами. Биологическая активность полученных веществ изучалась на изолированном роге матки кролика. Изолированные вещества являлись биологически активными, вызывая в слабых концентрациях усиление сокращений и повышение тонуса рога матки кролика.

Таблиц 2, иллюстр. 2, библиогр. 10 названий.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ ВОДНЫХ ИЗВЛЕЧЕНИЙ ПРИ ПОМОЩИ
ТУРБО- ИЛИ ОПАРЕНОЙ ЭКСТРАКЦИИСообщение I. Извлечения из листьев толокнянки (Fol. Uvae
ursi) и корней первоцвета (Rad. Primulae)Н.Вейдерпасс, Л.Кирш, Э.Кейх, Р.Шябо, Э.Рибане
и Э.Рудль

При помощи размельчителя тканей приготавливали турбо-методом водные извлечения из листьев толокнянки (I) и корней первоцвета (II) при комнатной температуре и с помощью горячей воды (100°C). Срок экстрагирования 5 и 10 минут, скорость вращения мешалки 3000 и 5000 об/мин. Изменение температуры воды от 20° до 23,2° /5 мин./ и до 23,5° /10 мин./; от 100° до 44,3° /5 мин./ и до 43,2° /10 мин./.

Доказано, что отвары I можно заменить турбо-извлечениями, полученными 10-минутным экстрагированием горячей водой со скоростью вращения мешалки 5000 об./мин. Содержание дубильных веществ и сухого остатка в этих извлечениях несколько ниже, чем в фармакопейном отваре, но содержание арбутина даже выше. Время приготовления извлечений сокращается в 3 раза /от 30 мин. до 10 мин./.

Отвары II нельзя заменить турбо-извлечениями, так как при 5-минутном вращении мешалки со скоростью 3000 об/мин. вследствие содержания сапонинов извлечения сильно пенятся и следовательно, уменьшается контакт между частицами сырья и извлекателя. Содержание сапонинов и экстрактивных веществ в турбо-извлечениях значительно ниже по сравнению с фармакопейными отварами. Образующаяся пена затрудняет также процеживание извлечений.

Вопросы возможности удаления или предотвращения образующейся пены требуют самостоятельного изучения.

Рис.2, диагр.4, библиогр.12 названий.

О ВОЗМОЖНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ЭСТОНСКИХ ГЛИН
В ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ ПРАКТИКЕ

Сообщение I. Изучение некоторых адсорбирующих свойств
глин Иоосуского и Вийвиконнаского место-
рождения.

Н.Вейдерпасс, Л.Кири, Э.Каск, Э.Киккас,
Т.Саар и Э. Ворм

Из 6 проб глин выбирали 2 пробы для подробного изуче-
ния, минералогический состав которых определяли при кафед-
ре геологии ТТУ ионизационным методом. Иоосуская глина (I)
содержит почти поровну гидрослюда и каолинит, Вийвиконна-
ская глина (II) — гидрослюда и хлорит.

Обе глины были изучены как в природном состоянии, так
и в Na-форме. Для этого обрабатывали глины раствором хло-
рида натрия.

Для выяснения адсорбирующих свойств I/ провели иссле-
дования с метиленовым синим, 2/ определяли количество ад-
сорбированных экстрактивных веществ из настоек валерьяны,
— зверобоя и —алоэ, 3/ определяли количество адсорбирован-
ного атропина из раствора атропина сульфата.

Глины адсорбировали разные количества экстрактивных
веществ из настоек/около 0,16-1,23 г на 100 г глины/, так-
же по разному атропин /около 0,05 г II и около 0,15 г I на
100 г глины/.

Изучение адсорбирующей способности глин помогает вы-
яснить возможность использования их в фармацевтической
практике.

Таблица 2, рис.2, библиогр. 12 названий.

УДК 615.281.074

КОЛИЧЕСТВЕННЫЙ АНАЛИЗ НАТРИЯ ПАРА- АМИНОСАЛИЦИЛАТА

В.Хансен, Б.Луик, Х.Пуйс

Сравнивая рациональность методов количественного анализа ПАСК-На по их достоверности, точности и стоимости, оказалось, что из исследованных методов и их вариантов равноценными были аргентометрия, ацидиметрия с комбинированным индикатором (метил.оранж.+ метил.синий) и титрование в безводной уксусной кислоте (0,1 и хлорной кислотой, инд.кристаллическ. фиолетовый).

Таблиц 8, библиогр. 8 названий.

УДК 615.356 : 577.164.17] . 074 : 543.432

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ МЕТОДОВ РАСЩЕПЛЕНИЯ ФОЛИЕВОЙ КИСЛОТЫ В ПАРААМИНОБЕНЗОЙНУЮ КИСЛОТУ

И.Крузе, А.Кикас, Р.Планк, Т.Хинрикус

Проведено сравнительное исследование разных методов расщепления фолиевой кислоты в парааминобензойную. Описан метод фотоколориметрического определения фолиевой кислоты после расщепления фолиевой кислоты при окислении в слабо желочном растворе с перманганатом калия.

Таблиц 4, иллюстр.1, библиогр.9 названий.

УДК 615.356:577.164.17]. 074 : [543. 432 + 543.253

**СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ КОЛОРИМЕТРИЧЕСКОГО И
ПОЛЯРОГРАФИЧЕСКОГО МЕТОДОВ АНАЛИЗА ФОЛИЕВОЙ КИСЛОТЫ**

И.Крузе

Сравнивались результаты полярографического и фотоэлектроколориметрического методов количественного определения фолиевой кислоты в поливитаминных препаратах. Для проведения полярографического анализа предложен в качестве фона бура-фосфатный буферный раствор pH 6,8.

Таблиц 2, иллюстр.3, библиогр.24 названия.

УДК 615.356:577.164.13]. 074:543.253

**ИССЛЕДОВАНИЕ ОСНОВНЫХ УСЛОВИЙ ДЛЯ ПОЛЯРОГРАФИЧЕСКОГО
ОПРЕДЕЛЕНИЯ ПИРИДОКСОЛА ГИДРОХЛОРИДА В ЛЕКАРСТВЕННЫХ
СМЕСЯХ**

И.Крузе

Проведено исследование полярографического определения пиридоксола гидрохлорида в лекарственных смесях на фоне разных буферных растворов. Разработана методика полярографического анализа пиридоксола после окисления его в пиридоксаль двуокисью марганца при pH 5,2.

Иллюстр. 8, библиогр.20 названий.

УДК 615.386:577.164.13]. 074:543.253

**КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ПОЛЯРОГРАФИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ
В ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТАХ ПИРИДОКСОЛА
ГЕДРОХЛОРИДА ПОСЛЕ ЕГО ОКИСЛЕНИЯ В ПИРИДОКСАЛЬ**

И.Крузе

Разработан полярографический метод определения пири-
доксола в фармацевтических препаратах на основе его окис-
ления двуокисью марганца в пиридоксаль в фосфатном или
ацетатном буферном растворе рН 5,2.

Таблиц 2, иллюстр.1, библиогр. 3 названия.

Hind 65 kop.

TU RAAMATUKOGU



1 0300 00288370 2